

ФЕДЕРАЛЬНОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ  
«САНКТ-ПЕТЕРБУРГСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ  
ЭПИДЕМИОЛОГИИ И МИКРОБИОЛОГИИ ИМ. ПАСТЕРА»  
ФЕДЕРАЛЬНОЙ СЛУЖБЫ ПО НАДЗОРУ В СФЕРЕ ЗАЩИТЫ ПРАВ  
ПОТРЕБИТЕЛЕЙ И БЛАГОПОЛУЧИЯ ЧЕЛОВЕКА

*На правах рукописи*

Макарова Мария Александровна

ГЕТЕРОГЕННОСТЬ ПОПУЛЯЦИИ ПАТОГЕННЫХ *ESCHERICHIA COLI* -  
ВОЗБУДИТЕЛЕЙ КИШЕЧНЫХ ИНФЕКЦИЙ И ЗАБОЛЕВАНИЙ  
ВНЕКИШЕЧНОЙ ЛОКАЛИЗАЦИИ

03.02.03 - микробиология

Диссертация  
на соискание ученой степени  
доктора медицинских наук

Научный консультант:  
Нарвская Ольга Викторовна  
доктор медицинских наук, профессор

Санкт-Петербург – 2021

## ОГЛАВЛЕНИЕ

|                                                                                                                                                                                                                                                                                  |           |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>ВВЕДЕНИЕ.....</b>                                                                                                                                                                                                                                                             | <b>6</b>  |
| Актуальность темы исследования.....                                                                                                                                                                                                                                              | 6         |
| Степень разработанности темы исследования.....                                                                                                                                                                                                                                   | 8         |
| Цель исследования.....                                                                                                                                                                                                                                                           | 9         |
| Задачи исследования.....                                                                                                                                                                                                                                                         | 9         |
| Научная новизна.....                                                                                                                                                                                                                                                             | 10        |
| Теоретическая и практическая значимость.....                                                                                                                                                                                                                                     | 13        |
| Методология и методы исследования.....                                                                                                                                                                                                                                           | 17        |
| Объекты исследования.....                                                                                                                                                                                                                                                        | 18        |
| Бактериологические методы исследования .....                                                                                                                                                                                                                                     | 19        |
| Иммунохроматографические методы исследования.....                                                                                                                                                                                                                                | 23        |
| Молекулярно-генетические методы исследования.....                                                                                                                                                                                                                                | 23        |
| Статистические методы исследования .....                                                                                                                                                                                                                                         | 29        |
| Личное участие автора в получении результатов.....                                                                                                                                                                                                                               | 30        |
| Основные положения, выносимые на защиту.....                                                                                                                                                                                                                                     | 31        |
| Степень достоверности и апробация результатов исследования.....                                                                                                                                                                                                                  | 32        |
| <b>ГЛАВА 1 СОВРЕМЕННОЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЕ О<br/>БИОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВАХ <i>ESCHERICHIA COLI</i> –<br/>ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ЗАБОЛЕВАНИЙ КИШЕЧНОЙ И<br/>ВНЕКИШЕЧНОЙ ЛОКАЛИЗАЦИИ, ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ<br/>НОРМОБИОТЫ КИШЕЧНИКА. ОСОБЕННОСТИ<br/>ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ) .....</b> | <b>35</b> |
| 1.1 Общие сведения о виде <i>E. coli</i> .....                                                                                                                                                                                                                                   | 35        |
| 1.2 Антигенная структура <i>E. coli</i> .....                                                                                                                                                                                                                                    | 36        |
| 1.3 Филогенетические группы <i>E. coli</i> .....                                                                                                                                                                                                                                 | 38        |
| 1.4 Диареегенные <i>E. coli</i> (DEC).....                                                                                                                                                                                                                                       | 39        |
| 1.4.1 Энтеропатогенные <i>E. coli</i> (EPEC).....                                                                                                                                                                                                                                | 41        |
| 1.4.2 Энтеротоксигенные <i>E. coli</i> (ETEC).....                                                                                                                                                                                                                               | 44        |
| 1.4.3 Энтероинвазивные <i>E. coli</i> (EIEC).....                                                                                                                                                                                                                                | 46        |

|                                                                                                                                              |     |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 1.4.4 Шигатоксин-продуцирующие <i>E. coli</i> (STEC).....                                                                                    | 48  |
| 1.4.5 Энтероаггративные <i>E. coli</i> (EAgEC).....                                                                                          | 54  |
| 1.4.6 Диффузно – адгерентные (прикрепляющиеся) <i>E. coli</i> (DAEC).....                                                                    | 60  |
| 1.5 Патотипы <i>E. coli</i> , вызывающие заболевания кишечника без диарейного синдрома.....                                                  | 61  |
| 1.6 <i>E. coli</i> – представители нормобиоты кишечника.....                                                                                 | 62  |
| 1.7 Внекишечные патогенные <i>E. coli</i> (ExPEC).....                                                                                       | 63  |
| 1.7.1 Уропатогенные <i>E. coli</i> (UPEC).....                                                                                               | 64  |
| 1.7.2 Менингит - и сепсис ассоциированные <i>E. coli</i> (NMEC/SEPEC).....                                                                   | 68  |
| 1.7.3 Патогенные для птиц <i>E. coli</i> (APPEC).....                                                                                        | 69  |
| 1.8 <i>E. coli</i> – возбудитель инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи (ИСМП).....                                              | 70  |
| 1.9 Резистентность <i>E. coli</i> к антимикробным препаратам.....                                                                            | 72  |
| 1.10 Лабораторная диагностика инфекций, обусловленных патогенными <i>E. coli</i> .....                                                       | 78  |
| <b>РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ</b> .....                                                                                             | 83  |
| <b>ГЛАВА 2 ХАРАКТЕРИСТИКА БИОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ШТАММОВ <i>ESCHERICHIA COLI</i> – ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ОСТРЫХ КИШЕЧНЫХ ИНФЕКЦИЙ</b> .....            | 83  |
| 2.1 Характеристика энтеропатогенных штаммов <i>E. coli</i> .....                                                                             | 92  |
| 2.2 Характеристика энтеротоксигенных штаммов <i>E. coli</i> .....                                                                            | 96  |
| 2.3 Характеристика энтероинвазивных штаммов <i>E. coli</i> .....                                                                             | 98  |
| 2.4 Характеристика шигатоксин-продуцирующих штаммов <i>E. coli</i> .....                                                                     | 100 |
| 2.5 Характеристика энтероаггративных штаммов <i>E. coli</i> .....                                                                            | 107 |
| <b>ГЛАВА 3 ХАРАКТЕРИСТИКА БИОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ШТАММОВ <i>ESCHERICHIA COLI</i> – ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ЗАБОЛЕВАНИЙ ВНЕКИШЕЧНОЙ ЛОКАЛИЗАЦИИ</b> ..... | 116 |
| 3.1 Гены, кодирующие факторы вирулентности ExPEC.....                                                                                        | 116 |
| 3.2 Филогенетические группы штаммов ExPEC .....                                                                                              | 119 |
| 3.3 Распространенность генов, кодирующих факторы вирулентности, в штаммах, относящихся к разным филогенетическим группам.....                | 122 |
| 3.4 Сравнение частоты встречаемости генов и факторов вирулентности в штаммах <i>E. coli</i> , выделенных из различных биоматериалов.....     | 127 |

|                                                                                                                                                       |            |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| 3.5 Определение критериев при оценке этиологической значимости штаммов <i>E. coli</i> , выделенных из различных биологических материалов.....         | 129        |
| 3.6 Выявление генов, кодирующих факторы патогенности DEC, в штаммах ExPEC, выделенных из различных биологических материалов....                       | 131        |
| 3.7 Мультилокусное секвенирование - типирование штаммов <i>E. coli</i> , выделенных при ИСМП из различных биологических материалов.....               | 131        |
| 3.8. Выявление <i>E. coli</i> международного клона ST131 в штаммах, выделенных из мочи и перитонеальной жидкости .....                                | 133        |
| <b>ГЛАВА 4 ХАРАКТЕРИСТИКА БИОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ШТАММОВ <i>ESCHERICHIA COLI</i> – ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ МИКРОБИОТЫ КИШЕЧНИКА .....</b>                       | <b>134</b> |
| <b>ГЛАВА 5 ХАРАКТЕРИСТИКА РЕЗИСТЕНТНОСТИ К АНТИМИКРОБНЫМ ПРЕПАРАТАМ ПОПУЛЯЦИИ <i>ESCHERICHIA COLI</i>, ВЫДЕЛЕННЫХ ОТ БОЛЬНЫХ И ЗДОРОВЫХ ЛИЦ .....</b> | <b>139</b> |
| 5.1 Общая характеристика чувствительности к АМП популяции <i>E. coli</i> .....                                                                        | 140        |
| 5.2 Сравнительная характеристика резистентности популяции <i>E. coli</i> .....                                                                        | 142        |
| 5.2.1 Характеристика резистентности к $\beta$ - лактамным АМП.....                                                                                    | 144        |
| 5.2.2 Характеристика резистентности к фторхинолонам.....                                                                                              | 146        |
| 5.2.3 Характеристика резистентности к аминогликозидам.....                                                                                            | 147        |
| 5.2.4 Характеристика резистентности к АМП других классов.....                                                                                         | 148        |
| 5.3 Характеристика множественной резистентности.....                                                                                                  | 149        |
| 5.4 Молекулярные механизмы резистентности к $\beta$ - лактамам.....                                                                                   | 151        |
| 5.4.1 Определение генов $\beta$ - лактамаз у штаммов возбудителей ИСМП.....                                                                           | 151        |
| 5.4.2 Определение генов $\beta$ - лактамаз у штаммов DEC.....                                                                                         | 152        |
| 5.4.3 Определение генов $\beta$ - лактамаз у штаммов <i>E. coli</i> – возбудителей ГСИ..                                                              | 153        |
| 5.4.4 Определение генов $\beta$ - лактамаз у штаммов <i>E. coli</i> – представителей нормобиоты кишечника.....                                        | 156        |
| <b>ГЛАВА 6 ОШИБКИ ИДЕНТИФИКАЦИИ ШТАММОВ <i>ESCHERICHIA COLI</i> СЕРОЛОГИЧЕСКИХ ГРУПП O6, O25 и O144.....</b>                                          | <b>158</b> |
| <b>ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....</b>                                                                                                                                | <b>166</b> |
| <b>ВЫВОДЫ.....</b>                                                                                                                                    | <b>179</b> |
| <b>ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....</b>                                                                                                                 | <b>181</b> |
| <b>ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ.....</b>                                                                                                    | <b>183</b> |

|                                          |            |
|------------------------------------------|------------|
| <b>СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....</b>            | <b>185</b> |
| <b>СПИСОК ЦИТИРУЕМОЙ ЛИТЕРАТУРЫ.....</b> | <b>188</b> |
| <b>ПРИЛОЖЕНИЕ 1 .....</b>                | <b>237</b> |
| <b>ПРИЛОЖЕНИЕ 2 .....</b>                | <b>238</b> |
| <b>ПРИЛОЖЕНИЕ 3.....</b>                 | <b>239</b> |
| <b>ПРИЛОЖЕНИЕ 4 .....</b>                | <b>240</b> |
| <b>ПРИЛОЖЕНИЕ 5 .....</b>                | <b>241</b> |
| <b>ПРИЛОЖЕНИЕ 6 .....</b>                | <b>242</b> |
| <b>ПРИЛОЖЕНИЕ 7.....</b>                 | <b>243</b> |
| <b>ПРИЛОЖЕНИЕ 8 .....</b>                | <b>244</b> |
| <b>ПРИЛОЖЕНИЕ 9.....</b>                 | <b>245</b> |
| <b>ПРИЛОЖЕНИЕ 10.....</b>                | <b>246</b> |
| <b>ПРИЛОЖЕНИЕ 11.....</b>                | <b>248</b> |
| <b>ПРИЛОЖЕНИЕ 12.....</b>                | <b>250</b> |

## ВВЕДЕНИЕ

### Актуальность темы исследования

Инфекции, вызванные *Escherichia coli*, имеют высокую социально-экономическую значимость и являются проблемой здравоохранения во всех странах. Важное эпидемиологическое значение эшерихиозов как острых кишечных инфекций, обусловлено их способностью к широкому эпидемическому распространению [24, 55, 135, 136, 168, 171, 307, 349]. Список сероваров *E. coli*, способных вызывать острые кишечные инфекции, постоянно пополняется; *E. coli* некоторых серологических групп, признанных ранее возбудителями, часто выделяют от практически здоровых людей [125, 159, 188, 285]. Клиническое значение имеет пул патогенных *E. coli* (ExPEC), вызывающих заболевания внекишечной локализации [27, 155, 305, 316, 318]. Несмотря на многолетнее и разностороннее изучение биологических свойств патогенных *E. coli*, многие аспекты биологии этого вида остаются нерешенными и требуют более углубленного изучения.

Популяция диареегенных *E. coli* (DEC) пополнилась представителями новых и «гибридных» патогрупп. К их числу относят энтероаггративные *E. coli*, вызывающие персистирующие длительно протекающие диареи, а также энтероаггративные шигатоксин-продуцирующие *E. coli*, вызывающие гемоколиты с развитием жизнеугрожающего осложнения - гемолитико-уремического синдрома [23, 75, 85, 122, 141, 166, 203, 215, 216, 261, 269].

В Российской Федерации лабораторная диагностика эшерихиозов, основанная на фенотипических методах, позволяет идентифицировать изолят до вида *E. coli* без учета патогенности, которая не является видовым признаком и ассоциирована с генами вирулентности конкретного штамма [35, 128, 167, 243, 354]. С позиций доказательной медицины для подтверждения этиологической значимости штамма *E. coli* необходимо определять генетические детерминанты вирулентности или их фенотипическую экспрессию.

Инфекции, вызываемые ExPEC, характеризуются большим разнообразием клинических форм, при которых существует высокий риск развития хронизации и постинфекционных осложнений у пациентов всех возрастных групп [31, 37, 52, 58, 89, 131, 155]. В России молекулярные методы оценки этиологической значимости штаммов и прогнозирования рисков развития жизнеугрожающих осложнений, таких как сепсис и менингиты, в настоящее время не используют.

Отдельную, важную проблему представляют инфекции, связанные с оказанием медицинской помощи, которые приводят к увеличению расходов на лечение, формированию и распространению резистентных к антимикробным препаратам штаммов возбудителей внутрибольничных инфекций [2, 67, 68, 78, 83, 88]. По результатам международных и российских исследований при инфекциях, связанных с оказанием медицинской помощи, ведущее место занимают грамотрицательные микроорганизмы, включая *E. coli*, на долю которых приходится до 48% случаев [2, 18, 49, 58, 63, 73, 83, 88].

К числу глобальных вызовов, с которыми столкнулось человечество, относится резистентность к антибиотикам возбудителей инфекционных заболеваний, которая приняла масштабы глобальной «пандемии» и рассматривается как крупнейшая угроза национальной безопасности в каждой стране. *E. coli*, резистентные к цефалоспорином и карбапенемам, относят к группе крайне приоритетных патогенов, представляющих наибольшую угрозу для здоровья человека [12, 16]. В России резистентность *E. coli* к клинически значимым антибиотикам приблизилась к критическому уровню [49, 67, 73, 80, 88].

Таким образом, широкий спектр заболеваний, обусловленных *E. coli*, возникновение крупных пищевых вспышек, гнойно-септических инфекций, в том числе, связанных с оказанием медицинской помощи, а также генерализация инфекции с развитием тяжелых осложненных форм или длительной персистенции возбудителя в организме человека, свидетельствуют о высокой эпидемиологической, клинической и социально-экономической значимости эшерихиозов и необходимости постоянного изучения генетических вариантов, спектров вирулентности и механизмов резистентности патогенных *E. coli*.

### Степень разработанности темы исследования

Отечественными и зарубежными исследователями накоплен обширный материал о биологических свойствах патогенных *E. coli*, эпидемиологических, патогенетических и клинических особенностях вызываемых ими заболеваний, однако, в лабораторной диагностике остается ряд нерешенных вопросов [10, 24, 35, 37, 41, 52, 103, 123, 145, 228, 277]. В Российской Федерации рутинная лабораторная диагностика основана на культуральных методах, в связи с чем, многие, в том числе «новые» и/или с измененными свойствами варианты возбудителей эшерихиозов не диагностируют [1, 30, 35, 42, 47, 54, 93].

Мало исследований посвящено энтероаггративным *E. coli* (EAgEC), характеризующимся генетическим потенциалом возникновения не только острых, продолжительных и хронических диарей, но и внекишечных заболеваний (цистит, пиелонефрит, холецистит) [23]. В нашей стране среди работ по изучению патогенных *E. coli* большинство посвящено диареегенным, количество исследований и публикаций о детерминантах вирулентности *E. coli* - возбудителей внекишечных заболеваний (ExPEC) крайне ограничено [32, 36, 37, 52]. Генетические детерминанты вирулентности как критерии оценки риска развития хронических форм и угрожающих жизни осложнений не используют для характеристики возбудителя и прогноза течения инфекционного процесса [58, 89]. В этой связи, вполне очевидна необходимость исследования популяций патогенных *E. coli* как основы совершенствования этиологической диагностики, профилактики и лечения вызываемых ими заболеваний.

Резистентность *E. coli* к клинически значимым антимикробным препаратам представляет глобальную проблему современности. Существенный вклад в изучение механизмов резистентности ExPEC, включая возбудителей инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи, внесли отечественные многоцентровые исследования «МАРАФОН», «ДАРМИС», «РеВАНШ» [48, 73, 86, 87, 88]. Крайне необходимо на национальном и региональных уровнях дополнить мониторинг данными о резистентности диареегенных и комменсальных *E. coli* для характеристики всей популяции.



Методами молекулярного субтипирования установлен факт циркуляции во многих странах высоковирулентных штаммов *E. coli* с множественной и экстремальной резистентностью к антибиотикам, принадлежащих к успешным клонам высоко риска пандемического распространения (ST 21, 131, 38, 405) [106, 123, 222, 238, 284, 291, 296]. В России детекцию эпидемически и клинически значимых международных клонов *E. coli* не проводят.

Одним из актуальных направлений исследований является изучение патогенного потенциала *E. coli*, колонизирующих кишечник человека, и оценка микробиоты здорового человека как резервуара вирулентных и резистентных к антибиотикам штаммов *E. coli* [33, 39, 110, 128, 150, 167, 242, 347].

В этой связи, комплексное изучение популяции патогенных *E. coli* с использованием молекулярно-генетических методов, позволяющих своевременно оценить клиническую и эпидемиологическую значимость выделенного штамма, необходимо для разработки персонализированных терапевтических стратегий и проведения целенаправленных профилактических и противоэпидемических мероприятий.

### **Цель исследования**

Охарактеризовать популяционную структуру и роль патогенных *Escherichia coli* в развитии кишечных и внекишечных заболеваний с использованием микробиологических и молекулярно - генетических методов исследования.

### **Задачи исследования**

1. Определить особенности биологических свойств и детерминанты вирулентности штаммов *E. coli* – возбудителей острых кишечных инфекций, выделенных на территории Российской Федерации.
2. Изучить генетическое разнообразие и оценить патогенный потенциал штаммов *E. coli* – возбудителей внекишечных заболеваний.
3. Дать характеристику штаммов энтероаггративных *E. coli*, выделенных при острых кишечных инфекциях и заболеваниях мочевыводящих путей.

4. Изучить чувствительность к антибактериальным препаратам штаммов *E. coli*, вызывающих инфекционную патологию.
5. Охарактеризовать бета-лактамазы и молекулярные механизмы резистентности, обуславливающие устойчивость штаммов *E. coli* к бета-лактамным антибиотикам.
6. Оценить уровни распространения генов вирулентности и резистентности к антибиотикам в субпопуляции *E. coli* – представителей нормобиоты кишечника.
7. Выявить «успешные» международные эпидемические клоны *E. coli*, вызывающих заболевания мочевыводящих путей (*E. coli* O25:H4-B2-ST131) и острые кишечные инфекции (*E. coli* O26:H11-B1-ST21) в Санкт-Петербурге.
8. Провести сравнительный анализ данных молекулярно-генетического и культурального методов исследования и обосновать этиологическую значимость штаммов *E. coli* как возбудителей острых кишечных инфекций.

### Научная новизна

Впервые в Российской Федерации охарактеризованы биологические свойства штаммов патогенных *Escherichia coli* – возбудителей диарейных и внекишечных заболеваний, представителей нормобиоты кишечника человека с использованием современных молекулярных методов детекции патогенетически значимых генов вирулентности, резистентности к антибиотикам и принадлежности к филогенетическим группам.

Данные о гетерогенности генетических свойств и антигенной характеристике диареогенных *Escherichia coli* существенно расширили сведения о циркулирующих возбудителях острых кишечных инфекций, использование которых послужат основой для разработки эффективных методов лабораторной диагностики, лечения, профилактики и проведения противоэпидемических мероприятий при возникновении очагов с групповой заболеваемостью.

Впервые выявлены штаммы энтероаггративных *Escherichia coli* (EAgEC), ранее не диагностируемой патогруппы в Российской Федерации. Используя комплекс молекулярных подходов к характеристике генетических свойств EAgEC,

получены результаты мирового уровня о сочетанном потенциале вирулентности, характерном для диареегенных и внекишечных *Escherichia coli*.

Впервые представлена комплексная характеристика штаммов *Escherichia coli* – возбудителей заболеваний внекишечной локализации, свидетельствующая о генетической вариабельности патогенного потенциала и резистентности к антимикробным препаратам. Наличие генов вирулентности (*afa*, *pap*, *sfa*, *kps*, *ibeA*) и резистентности (*bla*) является прогностическим признаком риска развития хронического течения болезни, острых жизнеугрожающих состояний и клинической неэффективности эмпирической терапии.

Выявлена высокая частота (49,8%) штаммов с множественной устойчивостью к клинически значимым антимикробным препаратам в популяции *Escherichia coli*: возбудителей диарейных (43,8%), внекишечных гнойно-септических (65,5%) заболеваний, инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи (100%) и представителей нормобиоты кишечника человека (33,7%). Показана высокая активность меропенема (99,8%), амикацина (93,9%) и нитрофурантоина (95,3%) для российской популяции патогенных *Escherichia coli*.

Получены новые для Российской Федерации данные о генетических детерминантах резистентности *Escherichia coli* к цефалоспорином III – IV поколения, обусловленной ведущим в мире механизме - продукция бета-лактамаз расширенного спектра генетических семейств CTX-M. С 2015 года отмечено появление в стационарах Санкт-Петербурга штаммов *Escherichia coli* резистентных к карбапенемам, продуцирующих NDM металло-бета-лактамазу. Информация о генах резистентности является важным инструментом для эпидемиологических исследований при оценке общего пула генов резистентности в популяции патогенных *Escherichia coli* и слежения за появлением новых клинически и эпидемически значимых фенотипов резистентности.

Показано, что на территории Российской Федерации циркулируют штаммы *Escherichia coli*, принадлежащие к глобальным международным клоном высокого риска – STEC O26:H11-B1-ST21 – возбудитель диарейных заболеваний и ExPEC O25:H4-B2-ST131 – возбудитель внекишечных заболеваний.

Впервые установлен факт колонизации кишечника здоровых лиц штаммами возбудителей заболеваний внекишечной локализации, что показывает эпидемиологическую значимость микробиоты кишечника как скрытого резервуара патогенных *Escherichia coli* с множественной резистентностью к антимикробным препаратам, в том числе, международного клона высокого эпидемического риска O25:H4 B2 ST131.

Впервые идентифицирован штамм *Escherichia coli* серологического варианта O144:H45, у которого отсутствуют гены вирулентности диареогенных и внекишечных *Escherichia coli* (патент на изобретение №2707640).

Созданы семь баз данных, которые включили уникальные результаты молекулярных исследований российских штаммов *E. coli* (детерминанты кодирующие вирулентность, резистентность, О- и Н- антигены, принадлежность к филогенетическим группам) и могут быть использованы для анализа фенотипических и генотипических характеристик штаммов *E. coli*, выделяемых на территории Российской Федерации: «Молекулярно-генетическая характеристика штаммов *Escherichia coli*, выделенных при внекишечных заболеваниях» (ФИПС № 2019621937), «Молекулярно-генетическая характеристика штаммов *Escherichia coli*, выделенных при флегмонозных аппендицитах» (ФИПС № 2019622277), «Молекулярно-генетическая характеристика штаммов EAgEC, выделенных из проб фекалий пациентов с диарейным синдромом» (ФИПС № 2019622323), «Молекулярно-генетическая характеристика комменсальных штаммов *Escherichia coli*, выделенных от здоровых (без признаков ОКИ) жителей Санкт-Петербурга (ФИПС № 2020620646), «Биологические свойства шигатоксин-продуцирующих штаммов *Escherichia coli* (STEC), выделенных из проб испражнений пациентов с диарейным синдромом» (ФИПС № 2020621031), «Биологические свойства штаммов энтеропатогенных *Escherichia coli* (EPEC), выделенных из проб испражнений пациентов с диарейным синдромом» (ФИПС № 2020621032), «Биологические свойства энтеротоксигенных штаммов энтеропатогенных *Escherichia coli* (ETEC), выделенных из проб испражнений пациентов с диарейным синдромом» (ФИПС № 2020621033).

### Теоретическая и практическая значимость

Научно обоснованы критерии оценки патогенного потенциала *Escherichia coli*, вызывающих заболевания кишечной, внекишечной локализации и колонизирующих кишечник здоровых лиц, завоза и циркуляции на территории Российской Федерации штаммов, принадлежащих к международным клонам ST 21, 131, 38, 405 высокого эпидемического риска пандемического распространения.

В результате проведенного исследования дано теоретическое обоснование и получено практическое подтверждение значимости и целесообразности использования комплекса культуральных и молекулярных методов при лабораторной диагностике острых кишечных инфекций, обусловленных *E. coli*, которые позволят охарактеризовать популяцию патогенных штаммов *E. coli* по антигенным, вирулентным свойствам, выявить наиболее значимые в клиническом и эпидемическом отношении клональные комплексы, проводить надзор за появлением на территории Российской Федерации возбудителей с новыми или измененными свойствами, уменьшить систематические ошибки при детекции возбудителей на постаналитическом этапе лабораторной диагностики.

Результаты молекулярного изучения штаммов *E. coli* могут быть использованы как теоретическая основа совершенствования лабораторной диагностики заболеваний эшерихиозной этиологии; молекулярно-генетического мониторинга возбудителей и облигатных представителей нормобиоты кишечника; оптимизации методов детекции клональной принадлежности; профилактики жизнеугрожающих осложнений.

Результаты изучения резистентности штаммов *E. coli*, выделенных при инфекционных заболеваниях (ОКИ, ГСИ, ИСМП) и входящих в состав нормобиоты кишечника, существенно дополняют характеристику всей популяции *E. coli*. Данные о распространении бета-лактамаз расширенного спектра имеют важное практическое значение, поскольку позволят актуализировать рекомендации по антибактериальной терапии, разработать универсальные методы выявления клональной принадлежности штаммов.

Созданные электронные базы данных, предназначенные для накопления,

хранения и анализа информации о биологических свойствах штаммов *E. coli*, позволяют проводить молекулярно-генетический мониторинг в системе эпидемиологического надзора за инфекциями, вызванными патогенными *E. coli*.

Двадцать четыре российских штамма *Escherichia coli* – возбудителей острых кишечных инфекций и заболеваний внекишечной локализации депонированы в Государственной коллекции патогенных микроорганизмов и клеточных культур «ГКПМ-Оболенск» как контрольные штаммы для детекции генов, кодирующих факторы вирулентности патогенных *Escherichia coli*, и устойчивости к антимикробным препаратам (В-7360, В-7440, В-7441, В-7736 - В-7741, В-8033, В-8034, В-8554, В-8555, В-8656, В-8657, В-8855, В-8856, В-8657, В-9031, В-9032, В-9037, В-9039 - В-9041).

В международном банке данных GenBank депонированы полная последовательность генома уникального штамма EA<sub>g</sub>EC, содержащего 610 нуклеотидных последовательностей – номера доступа GenBank WAGY000000000.1 - WAGY00000610.1, нуклеотидные последовательности гена *aatA* - регулятора генов вирулентности EA<sub>g</sub>EC (номера доступа MG564312, MG564313), гена *cds* – компонента транспортной системы липополисахарида O – антигена (номер доступа MN 638739), гена *wzm*, кодирующего синтез белка пермеазы (номер доступа MN 638740), гена *wzx*, кодирующего синтез антигена O145 (номер доступа JX112707), гена *fliC*, кодирующего синтез антигена H28 (номер доступа JX112708).

Рекомендации по организации системы наблюдения за устойчивостью к антимикробным препаратам штаммов *E. coli* – возбудителей внутрибольничных инфекций в учреждениях здравоохранения учтены при разработке Федеральных клинических рекомендаций «Принципы организации мониторингов устойчивости ведущих возбудителей инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи, к антимикробным препаратам в лечебно-профилактических медицинских организациях здравоохранения».

Рекомендации по критериям выбора молекулярного типирования штаммов *E. coli* при детекции международных клонов высокого риска, приняты при разработке Федеральных клинических рекомендаций «Молекулярно-

генетический мониторинг в системе эпидемиологического надзора за инфекциями, связанными с оказанием медицинской помощи».

Рекомендации по единым требованиям к процедуре определения чувствительности к антимикробным препаратам возбудителей бактериальных инфекций человека согласованы при разработке российских Клинических рекомендаций «Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам».

Рекомендации по методам выделения штаммов *E. coli* O157:H7 учтены в Методических указаниях 4.2.018-99 «Особенности лабораторной диагностики эшерихиозов, обусловленных энтерогеморрагическими *E. coli* O157:H7».

Рекомендации по организации преаналитического этапа лабораторных исследований согласованы при разработке Практических рекомендаций «Преаналитический этап микробиологических исследований».

Результаты работы представлены в отдельных главах Национального руководства «Клиническая лабораторная диагностика» (под ред. В.В. Долгова., В.В. Меньшикова – Москва: ГЭОТАР -Медиа, 2012), справочнике «Лабораторная диагностика инфекционных болезней» (под ред. В.И. Покровского, М.Г. Твороговой, Г.А. Шипулина. – Москва: Издательство БИНОМ, 2013, 2020); вошли в материалы Государственного доклада «О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2018 году» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека; монографии «Актуальные инфекции в Гвинейской Республике: эпидемиология, диагностика и иммунитет» (под ред. А.Ю. Поповой – Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека. – СПб.: ФБУН НИИЭМ имени Пастера, 2017), «Актуальные направления и перспективы Российско-Вьетнамского сотрудничества в сфере обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия» (под ред. А.Ю. Поповой – Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека. – Волгоград: ООО «Издательство «Волга-Пресс», 2019), «Микробиологический контроль качества

пищевой продукции» (под ред. А.Ю. Поповой, И.А. Дятлова – Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека. – Москва: Издательство «Династия», 2020).

Материалы диссертации вошли в учебные пособия «Преаналитический этап лабораторного исследования» (акт внедрения от 18.09.2020), «Лабораторная диагностика эшерихиозов» (акт внедрения 24.03.2020) и внедрены в образовательный процесс кафедры медицинской микробиологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова МЗ РФ при проведении сертификационных циклов повышения квалификации для врачей по специальности «Бактериология» и дополнительные профессиональные программы повышения квалификации врачей «Острые кишечные инфекции. Современные подходы к микробиологической диагностике», «Патогенные эшерихии», «Современные методы эпидемиологического маркирования возбудителей кишечных инфекций», «Резистентность микроорганизмов к антимикробным препаратам», «Молекулярно-генетический мониторинг за глобальной резистентностью» (акт внедрения от 07.04.2021), а также в лекционный материал сертификационных курсов усовершенствования по специальности «Бактериология» Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Смоленский государственный медицинский университет» МЗ РФ (акт внедрения 19.03.2021).

Предложения по совершенствованию лабораторной диагностики эшерихиозов внедрены в работу специализированной центральной бактериологической лаборатории СПб ГБУЗ «Клиническая инфекционная больница имени С.П. Боткина» (акт внедрения от 08.04.2021), клинко-диагностической лаборатории СПб ГБУЗ «Детская городская клиническая больница № 5 им. Н. Ф. Филатова» (акт внедрения от 25.02.2021), бактериологического отдела клинко-диагностической лаборатории СПб ГБУЗ «Детская городская больница № 17 Святителя Николая Чудотворца» (акт внедрения от 22.03.2021).



### Методология и методы исследования

Методология научной работы основана на современных научно обоснованных принципах изучения популяционной структуры *E. coli* и спланирована соответственно поставленной цели и задачам исследования. В качестве теоретического обоснования исследования использовали данные научной литературы, посвященные эпидемиологическим, микробиологическим и генетическим особенностям штаммов *E. coli*, выделенных при различных инфекционных заболеваниях человека. Планирование структуры проведения исследований осуществляли на основании общенаучных и репрезентативных методов, включающих бактериологические, иммунохроматографические, молекулярные, биоинформационные и статистические. Программа исследования предусматривала 5 этапов:

- подготовительный: сбор и реидентификация штаммов *E. coli* по культурально-ферментативным свойствам и антигенной характеристике;
- экспериментально-исследовательский: определение продукции токсинов (гемолизина, цитотоксины), чувствительности к АМП; детекция генов, кодирующих факторы вирулентности, О-и Н- антигены диареегенных *E. coli*, принадлежность к филогенетическим группам, резистентность к  $\beta$ -лактамам АМП; генотипирование с универсальными праймерами (REP, RAPD), мультилокусное секвенирование-типирование (MLST), полногеномное секвенирование (WGS).
- обработка полученных результатов (визуально, матрично-ассоциированной лазерной десорбции / ионизации – времяпролетной масс-спектрометрии, автоматические микробиологические анализаторы, визуализация гелей, статистика, создание компьютерных баз данных, веб-сайты, ген банки);
- постаналитический (интерпретация и анализ полученных результатов, формирование заключения);
- разработка практических рекомендаций.

Предметом исследования служили биологические свойства штаммов *E. coli*, отражающие патогенность (гены вирулентности, ассоциированные с адгезией,

инвазией, токсинообразованием, персистенцией и др.), чувствительность к АМП, в том числе механизмы и гены резистентности к  $\beta$ -лактамным препаратам, и принадлежность к филогенетическим группам.

Протокол исследования был одобрен этической комиссией ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера (протокол № 27).

### **Объекты исследования**

Объектами исследования явились 1704 штаммов *E. coli*. Коллекция штаммов DEC и ExPEC формировалась из присланных для ре- и идентификации изолятов, выделенных в бактериологических лабораториях семи ГБУЗ Санкт-Петербурга и ФБУЗ Центров гигиены и эпидемиологии шести городов (Санкт-Петербург и Ленинградская область, Вологда, Мурманск, Омск, Челябинск, Владивосток), а также в рамках научно-исследовательских работ, заключенных с бактериологическими лабораториями филиалов №№ 4 и 6 ФБУЗ ЦГиЭ по городу Санкт-Петербург и включала:

- 884 штамма *E. coli*, выделенных из испражнений взрослых и детей, обследованных по клиническим и эпидемическим показаниям (больные ОКИ, контактные лица из очагов ОКИ, декретированная группа населения);
- 136 штаммов *E. coli* – возбудителей ИСМП, выделенных из различных биологических материалов (кровь, моча, мокрота, раневое отделяемое);
- 100 штаммов *E. coli*, выделенных из мочи пациентов, проходивших лечение в амбулаторных условиях;
- 65 штаммов *E. coli*, выделенных из интраабдоминальной (перитонеальной) жидкости от экстренно госпитализированных пациентов с диагнозом острый флегмонозный аппендицит;
- 490 штаммов *E. coli* – выделенных из испражнений взрослых жителей Санкт-Петербурга без признаков острых и хронических заболеваний ЖКТ;
- 29 референтных штаммов микроорганизмов – для внутреннего контроля качества экспериментально-исследовательского этапа (Таблица 1).

Таблица 1 – Контрольные штаммы, использованные в работе

| Штамм                                                                                                                                                                                                                                                                                            | Цель использования                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | Коллекция                                                                                                                                                                                                                                                                             |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Микробиологические исследования                                                                                                                                                                                                                                                                  |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
| <i>S. sonnei</i> «S form»<br><i>E. coli</i> 3912/41(O55:K59)<br><br><i>S. flexneri</i> 1a 8516<br><i>K. pneumoniae</i> 3534/51<br><i>P. vulgaris</i> HX 19 222<br><i>S. flexneri</i> 2a 516<br><i>S. Typhimurium</i> (14028)<br><i>S. pneumoniae</i> ATCC 49619<br><br><i>E. coli</i> ATCC 25922 | контроль роста на среде Эндо (лак-)<br>контроль роста на среде Эндо(лак+)<br>контроль роста на средах Гисса с<br>лактозой (лак-), глюкозой (газ-),<br>сахарозой (сах+), мальтозой (+),<br>маннитом (ман-)<br>сорбитом (сор-); маннит (ман+)<br>определение лизиндекарбоксилазы<br>контроль роста на кровяном агаре<br>альфа-гемолиз<br>определение индола | Национальный центр<br>государственной<br>коллекции возбудителей<br>инфекций III - IV<br>групп патогенности<br>(Государственный НИИ<br>стандартизации и<br>контроля медицинских<br>биологических препаратов<br>им. Л.А. Тарасевича<br>Американская коллекция<br>типовых культур (ATCC) |
| <i>E. coli</i> ATCC 25922,<br><i>E. coli</i> ATCC 35218<br><i>K. pneumoniae</i> ATCC 700603                                                                                                                                                                                                      | Определение чувствительности к<br>АМП методами: диско-<br>диффузионным (ДДМ) и<br>градиентной диффузии                                                                                                                                                                                                                                                    | Американская коллекция<br>типовых культур (ATCC)                                                                                                                                                                                                                                      |
| Молекулярно-генетические исследования (детекция генов DEC)                                                                                                                                                                                                                                       |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
| <i>E. coli</i> 10-407<br><i>E. coli</i> 217<br>EDL 933<br><i>Shigella</i> 98-11741<br>17-2<br><i>E. coli</i> O42<br>B2F1<br><i>E. coli</i> Hb101<br><i>Hafnia</i>                                                                                                                                | - <i>east, lt, st, cfa</i><br>- <i>bfp, eae, eaf</i><br>- <i>stx1, stx2, ehxA, eae</i><br>- <i>ial, ipaH, invE</i><br>- <i>aafI, aggR</i><br>- <i>aggR, aap, aatA, pet, aai</i><br>- <i>saa</i><br>- отрицательный контроль<br>- отрицательный контроль                                                                                                   | Коллекция лаборатории<br>биоразнообразия<br>патогенов Парижского<br>института Пастера                                                                                                                                                                                                 |
| Детекция генов ExPEC                                                                                                                                                                                                                                                                             |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
| KS52<br>J96<br><i>E. coli</i> 99-196<br>CFT073<br><i>N. meningitidis</i>                                                                                                                                                                                                                         | - <i>afa</i><br>- <i>pap/sfa, hlyA, cnf</i><br>- <i>iutA</i><br>- <i>PAI, iutA, fyuA</i><br>- <i>kps MTII, kps MT KI</i>                                                                                                                                                                                                                                  | Американская коллекция<br>типовых культур (ATCC)                                                                                                                                                                                                                                      |
| Детекция генов β-лактамаз                                                                                                                                                                                                                                                                        |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
| <i>E. coli</i> NCTC13351<br><i>E. coli</i> NEQASU2A1789<br><i>E. coli</i> BARN-ESBL-04<br><i>E. coli</i> BARN-ESBL-62                                                                                                                                                                            | - <i>bla<sub>TEM</sub></i><br>- <i>bla<sub>SHV</sub></i><br>- <i>bla<sub>CTX-M</sub></i><br>- <i>bla<sub>AmpC</sub></i>                                                                                                                                                                                                                                   | Коллекция Шведского<br>института по контролю<br>заболеваемости                                                                                                                                                                                                                        |

### Бактериологические методы исследования

#### Идентификация штаммов *E. coli*

Видовую идентификацию проводили методом матрично-ассоциированной лазерной десорбции / ионизации – времяпролетной масс-спектрометрии (MALDI-

TOF MS) с использованием системы Microflex LT и программного обеспечения MALDI Biotyper v.30 (Bruker Daltonics, Германия). Значения «Score»  $\geq 2,2$  были использованы в качестве критерия надежной видовой идентификации.

Морфологические, ферментативные свойства и антигенную характеристику штаммов *E. coli* изучали согласно действующим методическим документам (МУ 04-723/3 «Методические указания по микробиологической диагностике заболеваний, вызываемых энтеробактериями»; МУК 4.2.2963-11 Методические указания по лабораторной диагностике заболеваний, вызываемых *Escherichia coli*, продуцирующих шига-токсины (STEC-культуры), и обнаружению возбудителей STEC-инфекций в пищевых продуктах». Контроль качества питательных сред проводили в соответствии методическим указаниям МУК 4.2.2316-08 «Методы контроля бактериологических питательных сред».

Подвижность оценивали по характеру роста посева уколом в столбик 0,3% полужидкого питательного агар. Результаты учитывали через 18-24 ч инкубации при 37°C. Культуры, вызывающие диффузное помутнение среды, считали подвижными; растущие по уколу – неподвижными.

Ферментативные свойства и варианты (биовары) штаммов *E. coli* изучали в пробирочных биохимических тестах. Проводили посевы на среды Гисса с углеводами и многоатомными спиртами: глюкозой, лактозой, сахарозой, мальтозой, рамнозой, маннитом, дульцитом и сорбитом. Результаты учитывали через 18-20 ч. инкубации при 37°C. Для изучения ферментативной активности штаммов использовали автоматический бактериологический анализатор VITEK-2 Compact (Biomérieux, Франция) (Gram-Negative identification card (GN)) и тест-систему «ENTERO test 24» (ЭрбаЛяхема, Чехия). Интерпретацию результатов тестов (аргинин, орнитин, лизин, салицин,  $\beta$ -глюкуронидаза, адонит, арабиноза, ксилоза, инозит, раффиноза) проводили согласно инструкции производителя с использованием книги – кодов, прилагаемой на CD-диске в формате.pdf.

Серогрупповую принадлежность штаммов *E. coli* определяли в реакции агглютинации на стекле, с диагностическими поливалентными ОКА, ОКВ, ОКС, ОКД, ОКЕ и групповыми ОК -, О - сыворотками и ОК – иммуноглобулинами,

используя наборы «Сыворотки диагностические, эшерихиозные ОК поливалентные сухие для реакции агглютинации (РА)», «Сыворотки диагностические, эшерихиозные О-групповые и факторные сухие для РА», «Иммуноглобулины диагностические эшерихиозные типовые» (ОАО «Биомед» им. И.И. Мечникова, Россия). Серовариант штаммов (H-антиген) определяли молекулярным методом, описанным в соответствующем разделе ниже.

#### Выявление продукции гемолизинов

О способности штаммов к продукции гемолизинов судили по характеру роста на ГМФ агаре (ФБУН ГНЦ ПМБ, Россия) с добавлением 5% дефибринированной крови барана (E&O Laboratories Ltd., Шотландия). Учет результатов осуществляли через 24 ч. Инкубации при 37<sup>0</sup>С. При наличии гемолизинов, вызывающих лизис эритроцитов, выявляли четко очерченные прозрачные зоны вокруг колоний ( $d = 8,0-1,0$  мм). Энтерогемолитическую активность определяли на ГМФ агаре с добавлением 5% дефибринированной крови барана и 10,0 М CaCl<sub>2</sub>. Культуры *E. coli* в одном секторе чашки Петри высевали вертикальным и горизонтальным штрихами, в другом – в виде креста, инкубировали при 37<sup>0</sup>С в течение 24 часов. Формирование зон двойного гемолиза вокруг выросших колоний указывало на продукцию энтерогемолизинов [20].

#### Определение чувствительности к антимикробным препаратам

Для определения чувствительности к антимикробным препаратам (АМП) использовали два метода: диско-диффузионный и градиентной диффузии (Е-тест). Тестирования штаммов выполняли на питательной среде Мюллера-Хинтон (ФБУН ГНЦ ПМБ, Россия) с дисками и тестами Oxoid (Великобритания). Интерпретацию результатов, проводили согласно действующим КР 2014-2018 г. и критериям EUCAST 2014-2018 гг. ([http://www.eucast.org/clinical\\_breakpoints/](http://www.eucast.org/clinical_breakpoints/)). Список АМП для тестирования включал препараты, используемые для лечения острых кишечных и внекишечных инфекций, вызванных *E. coli*, и индикаторные препараты для мониторинга устойчивости и детекции клинически значимых

механизмов резистентности [9, 25, 43, 44, 45, 46, 50, 56, 60, 61, 65, 69, 91].

Чувствительность определяли к следующим АМП: пенициллинам (ампициллин, амоксициллин / клавулановая кислота (клавуланат)), цефалоспорином III-IV поколения (цефотаксим, цефтазидим, цефепим), карбапенемам (меропенем), аминогликозидам (амикацин, гентамицин), тетрациклину, хлорамфениколу, хинолонам и фторхинолонам (налидиксовая кислота и ципрофлоксацин), нитрофурантоину, сульфаниламиду и триметоприм / сульфаметоксазолу. В качестве посевного материала использовали суспензию *E. coli* в концентрации 0,5 McFarland ( $1,5 \times 10^8$  КОЕ/мл). Концентрацию бактериальной суспензии определяли по оптической плотности, с использованием денситометра (DEN-1 McFarland Densitometer, BIOSAN). Учет результатов проводили путем измерения диаметра зоны полного подавления видимого роста с помощью кронциркуля и выражали в мм. На основании полученных данных штаммы *E. coli* были распределены на следующие категории: чувствительные (Ч), умеренно резистентные (У), резистентные (Р) и нечувствительные (НЧ); к последней были отнесены (У) и (Р) штаммы.

Для выявления продукции БЛРС ( $\beta$ -лактамаз расширенного спектра) использовали метод «двойных дисков» с цефтазидимом, цефотаксимом, цефепимом и амоксиклавом [46, 62, 82, 99]. Выявление продукции карбапенемаз проводили СИМ тестом (Carbapenem inactivation method), который, согласно Национальным клиническим рекомендациям по определению чувствительности к антибиотикам (2015 г.) является строго рекомендуемым для всех изолятов энтеробактерий с МПК меропенема  $>0,12$  мг/л или зоной подавления роста  $<27$ мм (хотя чувствительными считают изоляты с зоной подавления роста  $\geq 22$ мм).

К фенотипу множественной резистентности (MDR), в соответствии с международными критериями, были отнесены штаммы, устойчивые к трем классам АМП, включая продуцентов БЛРС и карбапенемаз, фенотипом экстремальной резистентности (XDR) – характеризовали штаммы, устойчивые ко всем АМП, за исключением одного или двух классов [86, 253].

## **Иммунохроматографические методы исследования**

### Выявление продукции шигаподобных токсинов

Продукцию шигаподобных токсинов (Stx) в бактериальных культурах определяли в иммунохроматографических (ИХ) экспресс-тестах RIDA QUICK Verotoxin/O157 Combi (Rbiopharm, Германия) и Duopath® Verotoxins (Merck, Германия) согласно инструкциям производителей и Методическим указаниям МУК 4.2.2963-11 «Методические указания по лабораторной диагностике заболеваний, вызываемых *E. coli*, продуцирующих шига-токсины (STEC-культуры) и обнаружению возбудителей STEC-инфекций в пищевых продуктах» (2011 г.).

## **Молекулярно-генетические методы исследования**

### Экстракция ДНК

Экстракцию тотальной ДНК из клинического материала для последующего анализа методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с гибридизационно-флуоресцентной детекцией в режиме «реального времени» проводили с использованием комплекта реагентов «АмплиПрайм®РИБО-преп» («НекстБио», Россия) согласно инструкции производителя.

Выделение бактериальной ДНК для использования в ПЦР с последующим анализом амплификации в агарозном геле проводили набором «InstaGene™Matrix» (BioRad, США) согласно прилагаемой инструкции.

### Полимеразная цепная реакция

ПЦР проводили в режиме автоматической амплификации в термоциклере СХТ-1000 (BioRad, США). Использовали готовую смесь с Taq ДНК-полимеразой, «PCR Master Mix» («ThermoFisher Scientific», США). Объемы праймеров вносили в пределах 0,5-1,5 µl при неизменном объеме пробы (20 µl), что достигалось соответствующим изменением объема стерильной дистиллированной воды. Праймеры синтезировали (ООО «Синтол», ЗАО «Сибэнзим», ЗАО «Евроген», Россия). Все реагенты (за исключением дистиллированной воды) хранили при

температуре  $-20^{\circ}\text{C}$ . Полученные амплификаты использовали сразу для электрофореза в агарозном геле или хранили при  $+4^{\circ}\text{C}$  не более 1 месяца.

### Электрофорез в агарозном геле

Разделение амплифицированных фрагментов ДНК проводили в  $0,5\times\text{TBE}$  буфере с добавлением бромистого этидия при 120 V в течение 60 мин. В камере для электрофореза (BioRad, США) в горизонтальном геле. Визуализацию геля проводили с использованием системы документирования Gel Doc (BioRad, США). В качестве маркеров молекулярного веса использовали ДНК – маркер «100 bp + 1,5 Kb + 3 Kb (SibEnzyme, Россия).

### Детекция генов, кодирующих факторы вирулентности

В таблице 2 представлены факторы вирулентности и кодирующие их гены, детекцию которых проводили при изучении коллекции штаммов *E. coli*. В приложениях 1 и 2 указаны нуклеотидные последовательности праймеров, использованных в ПЦР и размеры ожидаемых ампликонов.

Таблица 2 – Факторы вирулентности *E. coli* и кодирующие их гены

| Фактор вирулентности | Кодирующий ген | Патотип <i>E. coli</i> | Функция                                                                         |
|----------------------|----------------|------------------------|---------------------------------------------------------------------------------|
| Адгезины             | <i>fimH</i>    | ExPEC                  | Фактор колонизации при внекишечных инфекциях, образование биопленки             |
|                      | <i>afa</i>     | UPEC                   | Афимбриальная адгезия с поверхностью эпителиоцитов                              |
|                      | <i>aggR</i>    | EAgEC                  | Активатор транскрипции генов вирулентности                                      |
|                      | <i>aggA</i>    | EAgEC                  | Экспрессия агрегативно адгезивных фимбрий                                       |
|                      | <i>aaf</i>     | EAgEC                  | Агрегативно – адгезивные фимбрии                                                |
|                      | <i>bfpA</i>    | EPEC                   | IV тип пилей, локальная адгезия                                                 |
|                      | <i>eaeA</i>    | EPEC, EHEC             | Белок наружной мембраны (интимин)                                               |
|                      | <i>eaf</i>     | EPEC                   | Плазмида фактора адгезии EPEC                                                   |
|                      | <i>cfa</i>     | ETEC                   | Маннозрезистентные фимбрии                                                      |
|                      | <i>rarp</i>    | UPEC<br>SEPEC          | Фактор колонизации при внекишечных инфекциях (пиелонефрит – ассоциируемые пили) |
|                      | <i>sfa</i>     | UPEC,<br>NMEC          | Адгезия к эпителиоцитам почек, нижних мочевыводящих путей                       |
|                      | <i>focG</i>    | UPEC                   | F1C-пили                                                                        |
|                      | <i>daa</i>     | DAEC                   | Диффузно-адгезивные фимбрии                                                     |
|                      | <i>saa</i>     | STEC                   | STEC – аутоагглютинирующий адгезин                                              |



|                                     |                            |               |                                                                  |
|-------------------------------------|----------------------------|---------------|------------------------------------------------------------------|
| Токсины                             | <i>east</i>                | EAgEC         | Термостабильный энтеротоксин EAgEC                               |
|                                     | <i>exhA</i>                | EHEC          | Энтерогемолизин                                                  |
|                                     | <i>elt</i>                 | ETEC          | Термолабильный энтеротоксин                                      |
|                                     | <i>est</i>                 | ETEC          | Термостабильный энтеротоксин                                     |
|                                     | <i>stx1,2</i>              | STEC          | Шигатоксин 1,2 цитотоксин                                        |
|                                     | <i>cnf</i>                 | UPEC          | Цитотоксический некротизирующий фактор                           |
|                                     | <i>hlyA</i>                | DEC<br>ExPEC  | $\alpha$ - гемолизин                                             |
|                                     | <i>pet</i>                 | EAgEC         | Термолабильный энтеротоксин EAgEC                                |
|                                     | <i>cdt</i>                 | UPEC          | Цитолетальный токсин                                             |
|                                     | <i>cvaC</i>                | ExPEC         | Колицин V                                                        |
| Синтез капсулы (K1, K5, K12)        | <i>kpsMT II</i>            | ExPEC         | Фактор защиты от фагоцитоза                                      |
| Фактор колонизации                  | <i>aap</i>                 | EAgEC         | Секреторный белок дисперзин                                      |
| Транспорт белков                    | <i>aat</i>                 | EAgEC         | Транспорт дисперзина к поверхности бактерии                      |
| Секреторные системы                 | <i>aai</i>                 | EAgEC         | Активатор экспрессии типа IV секреторной системы                 |
| Инвазины                            | <i>ipaH</i>                | EIEC          | Антиген плазмиды инвазивности                                    |
|                                     | <i>ial</i>                 | EIEC          | Локус плазмидной инвазии                                         |
|                                     | <i>invE</i>                | EIEC          | Регулятор плазмиды инвазивности                                  |
|                                     | <i>ibeA</i>                | NMEC<br>SEPEC | Инвазия эндотелиальных клеток головного мозга                    |
| Сидерофоры аэробактин иерсинибактин | <i>iutA</i><br><i>fyuA</i> | UPEC          | Связывание и регуляция транспорта Fe внутрь бактериальной клетки |
| Другие                              | <i>traT</i>                | NMEC<br>SEPEC | Фактор устойчивости к бактерицидному действию сыворотки крови    |
|                                     | PAI                        | UPEC          | Остров патогенности UPEC CFT 073                                 |

### Детекция генов, кодирующих $\beta$ -лактамазы

Для определения трех функциональных групп  $\beta$ -лактамаз: TEM, SHV, CTX-M (молекулярный класс A); AmpC (молекулярный класс C); OXA (молекулярный класс D) и металло –  $\beta$  – лактамаз IMP, VIM, NDM (молекулярный класс B) проводили детекцию генов резистентности в формате мультиплексных ПЦР. В приложении 3 указаны нуклеотидные последовательности праймеров, использованных в ПЦР и размеры ожидаемых ампликонов [34, 63, 156, 332].

### Субвидовое типирование шигаподобных токсинов

Детекцию субтипов *stx1* (*stx1a*, *stx1c*, *stx1d*) и *stx2* (*stx2a*, *stx2b*, *stx2c*, *stx2d*, *stx2e*, *stx2f*, *stx2g*) проводили в формате мультиплексных ПЦР, согласно

протоколу Международного референс-центра по *Escherichia* и *Klebsiella* [182, 209, 303, 324]. В приложении 4 указаны нуклеотидные последовательности праймеров, использованных в ПЦР и размеры ожидаемых ампликонов.

#### Филогенетическое типирование

Филогенетическая классификация штаммов *E. coli* была выполнена методом мультиплексного флотипирования, предложенного Clermont et. al., на основе ПЦР с использованием праймеров, нацеленных на три маркера: *chuA*, *yjaA* и TspE4.C2 [145]. Принадлежность к филогенетическим группам устанавливали при анализе комбинаций продуктов ПЦР. К филогенетической группе А относили штаммы, имеющие профиль *chuA* «-», *yjaA* «-», TspE4.C2 «-» или *chuA* «-», *yjaA* «+», TspE4.C2 «-»; группе B1 – *chuA* «-», *yjaA* «-», TspE4.C2 «+»; группе B2 – *chuA* «+», *yjaA* «+», TspE4.C2 «+» или *chuA* «+», *yjaA* «+», TspE4.C2 «-»; группе D *chuA* «+», *yjaA* «-», TspE4.C2 «-» или *chuA* «+», *yjaA* «-», TspE4.C2 «+».

#### Детекция *E. coli* ST131 методом мультиплексной ПЦР

Для быстрого установления принадлежности штаммов *E. coli* к международному клону высокого риска эпидемического распространения ST131 использовали праймеры trpA.F (5'-GCTACGAATCTCTGTTTGCC-3') и trpA2.R (5'-GCAACGCGGCCTGGCGGAAG-3'), и связанного с ним серовара O25:H4, праймеры O25pabBspe.F (5'-TCCAGCAGGTGCTGGATCGT-3') и O25pabBspe.R (5'-GCGAAATTTTCGCCGTACTGT-3'), предложенные Clermont O., 2009, Matsumura Y., 2017 [146, 259].

#### ПЦР с гибридационно-флуоресцентной детекцией

ПЦР проводили с помощью амплификатора с системой детекции флуоресцентного сигнала в режиме «реального времени» (ПЦР-РВ) СХТ-1000 (Bio-Rad, США). Для выявления и дифференциации ДНК диареегенных *E. coli* использовали набор реагентов «АмплиСенс® Эшерихиозы – FL» (ФБУН Центральный НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, Россия). Интерпретацию

результатов проводили на основании уровня флуоресцентных сигналов соответствующих каналов HEX, FAM или ROX. Принадлежность штаммов к патогруппам ETEC, EIEC, EAgEC устанавливали согласно инструкциям и методическим рекомендациям производителя [59]. Штаммы, у которых были выявлены уровни флуоресценции выше порогового значения по каналу HEX в ПЦР- смеси -1 расценивали как шигатоксин-продуцирующие (STEC), штаммы у которых были выявлены уровни флуоресценции выше порогового значения по каналу HEX в двух смесях ПЦР- смеси -1 и ПЦР- смеси -2 расценивали как энтерогеморрагические (EHEC).

Детекцию генов металло –  $\beta$ -лактамаз (MBL): VIM-, IMP- и NDM – типов и сериновых карбапенемаз (групп KPC и OXA-48) определяли методом ПЦР в режиме реального времени с использованием коммерческих наборов «АмплиСенс® MDR MBL-FL» и «АмплиСенс® MDR KPC/OXA-48- FL» (ФБУН Центральный НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, Россия), согласно инструкциям и методическим рекомендациям производителя.

### Молекулярное серотипирование

Для подтверждения O – антигена штаммов, идентифицированных бактериологическим методом с использованием агглютинирующих сывороток, а также детекции генов, ответственных за продукцию соматических антигенов у «неагглютинирующихся» штаммов *E. coli* использовали ПЦР в мультиплексном формате с последующей электрофоретической детекцией продуктов амплификации. Целенаправленный поиск генов, кодирующих O – антиген, проводили к группам O6, O25, O26, O29, O55, O111, O114, O119, O124, O125, O126, O127, O128, O142, O144, O145, O157, O164 [158, 163, 208, 244, 249, 320].

Серологический вариант штаммов устанавливали на основе детекции генов *fliC*, кодирующих H-антигены *E. coli* (H2, H4, H5, H6, H7, H8, H11, H21, H28, H34, H40, H42, H45) в формате мультиплексной ПЦР [114, 118, 119, 164].

В приложениях 5 и 6 указаны нуклеотидные последовательности праймеров, использованных в ПЦР и размеры ожидаемых ампликонов.

### ПЦР с универсальными праймерами (RAPD- и REP-ПЦР)

RAPD – генотипирование штаммов *E. coli* проводили с широко апробированными универсальными праймерами RAPD1 – 5'-GTGGCCGATG-3' и RAPD2 – 5'-CCTGGGTCAG-3' [52, 189, 257, 355]. ПЦР выполняли в 10 µl реакционной смеси, содержащей 3,0 µl геномной ДНК и 7 µl Taq Master Mix с концентрацией  $MgCl_2$  2,5 mM. Режим амплификации включал начальная инкубация – 15 мин. – 94°C; 35 циклов по схеме: денатурация 1 мин. При 94°C, отжиг 1 мин. При 40°C, элонгация 2 мин. При 72°C; завершающий цикл 5 мин. При 72°C. Электрофоретическое разделение продуктов реакции проводили в 1,2% агарозном в течение 4 ч при напряженности электрического поля 55V. В качестве маркера размера паттернов использовали DNA ladder (50+100 kb до 1 Mb) (ЗАО Евроген, Россия).

REP-ПЦР применяли для амплификации повторяющихся экстрагенных палиндромных (REP) и внутригенных последовательностей, впервые описанных у представителей семейства *Enterobacteriaceae* (ERIC). Использовали универсальные праймеры ERIC 1 – 5'-ATGTAAGCTCCTGGGGATTAC-3' и ERIC 2 – 5'- AAGTAAGTGACTGGGGTGAGCG-3' [311, 360]. ПЦР проводили в 25 µl реакционной смеси, содержащей 5 µl геномной ДНК 10 µl Taq Master Mix с концентрацией  $MgCl_2$  3,0 mM, по 1,2 µl праймеров ERIC1 и ERIC2. Реакционные условия: начальная инкубация 5 мин. При 94°C; 40 циклов по схеме: денатурация 30 с. При 94°C, отжиг 30 с при 48°C, элонгация 1 мин. При 72°C, завершающий цикл – 10 мин. При 72°C. Электрофоретическое разделение продуктов реакции проводили в 3% агарозном геле в течение 2 ч при напряженности электрического поля 110V. В качестве маркера размера паттернов использовали DNA ladder (50+100 kb до 1 Mb) (ЗАО Евроген, Россия).

### Мультилокусное секвенирование-типирование (MLST)

По результатам секвенирования по Сэнгеру 136 штаммов *E. coli* и полногеномного секвенирования 28 штаммов проводили оценку полиморфизма семи генов «домашнего хозяйства» - аденилаткиназы (*adk*), фумарат гидратазы

(*fumC*), ДНК гиразы (*gyrB*), изоцитрат дегидрогеназы (*icd*), малат дегидрогеназы (*mdh*), аденилосукцинат дегидрогеназы (*purA*) и рекомбиназы А (*recA*) [361]. Сиквенс тип (ST) штамма устанавливали согласно международной схеме и стандартами баз данных MLST University of Warwick (MarkAchtmanDatabase, <http://mlst.warwick.ac.uk/mlst/dbs/Ecoli/>) и Center of Genomic Epidemiology (<https://cge.cbs.dtu.dk/services/MLST/>).

### Полногеномное секвенирование (WGS)

Геномную ДНК выделяли с использованием коммерческого набора QIAamp DNA Mini Kit (QIAGEN, Германия), подготовку библиотек проводили с помощью набора TrueSeq (Illumina Inc, США), секвенирование выполняли на платформе MiSeq (Illumina). Аннотацию генома проводили с помощью утилиты Prokka v. 1.11 и геномного сервера FAST. Для анализа последовательностей ДНК полных геномов штаммов *E. coli* использовали, веб – сайт Центра геномной эпидемиологии (<https://cge.cbs.dtu.dk/services/>). Поиск генетических детерминант патогенности, вирулентности, антибиотикорезистентности, принадлежность к сиквенс-типу (ST) и установления антигенной характеристики штамма (О – и Н – антигенов) проводили с использованием онлайн сервисов:

- PathogenFinder (<https://cge.cbs.dtu.dk/services/PathogenFinder/>);
- VirulenceFinder (<https://cge.cbs.dtu.dk/services/VirulenceFinder/>);
- ResFinder 2.1 (<https://cge.cbs.dtu.dk/services/ResFinder/>);
- MLST-1.8 Server (<https://cge.cbs.dtu.dk/services/MLST/>);
- SerotypeFinder 1.1 (<https://cge.cbs.dtu.dk/services/SerotypeFinder/>).

### **Статистические методы исследования**

Полученные данные обрабатывали с помощью компьютерной программы Excel (Microsoft Office) и программы WINPEPI, предназначенной для практического использования и исследований в области здравоохранения. Для оценки статистической значимости различий средних величин применяли точный критерий Фишера. Статистически значимыми считали различия при

доверительном интервале 95% ( $p < 0,05$ ). Полученные данные представлены в виде таблиц и диаграмм.

Сводная информация об объеме и методах, использованных в работе представлена в таблице 3.

Таблица 3 – Объем проведенных исследований

| Методы исследований                                                 | Количество штаммов |
|---------------------------------------------------------------------|--------------------|
| <b>1. Бактериологические</b>                                        |                    |
| 1.1 Ферментативные свойства                                         | 1704               |
| 1.2 Продукция гемолизина                                            | 1684               |
| 1.3 Чувствительность к АМП                                          | 1033               |
| 1.4 Продукция БЛРС в тесте синергизма с двумя дисками               | 1033               |
| 1.5 Серологическая (антигенная) идентификация                       | 920                |
| <b>2. Иммунохроматографические</b>                                  |                    |
| 2.1 Продукция шигаподобных токсинов                                 | 42                 |
| <b>3. Молекулярно-генетические</b>                                  |                    |
| 3.1. Детекция патогрупп DEC методом ПЦР-РВ                          | 2125               |
| 3.2 Детекция генов, кодирующих факторы вирулентности методом ПЦР-ЭФ | 1824               |
| 3.3 Детекция генов, кодирующих $\beta$ – лактамазы                  | 560                |
| 3.4 Филогенотипирование                                             | 1824               |
| 3.5 Субвидовое типирование шигаподобных токсинов                    | 42                 |
| 3.6 Выявление эпидемически значимых ST методом ПЦР                  | 824                |
| 3.7 Молекулярное серотипирование                                    | 884                |
| 3.8. ПЦР с универсальными праймерами                                | 940                |
| 3.9 MLST                                                            | 193                |
| 3.10 WGS                                                            | 28                 |

### **Личное участие автора в получении результатов**

Автором на основе анализа научной литературы определено обоснование научного исследования, разработаны этапы программы и план исследования, сформулированы цель, задачи, выбраны объекты, предмет, методология и методы исследования, а также непосредственное участие на всех этапах исследования.

Бактериологические исследования (посев проб биологического материала и штаммов, присланных для реидентификации, изучение ферментативных и серологических свойств, определение чувствительности к АМП методами диско-диффузионным и градиентной диффузии (Е-тесты), продукции гемолизинов,

шигаподобных токсинов, БЛРС и карбапенемаз) автор осуществлял лично.

Молекулярно-генетические исследования (экстракция ДНК, постановка ПЦР с электрофоретической и гибридизационно – флуоресцентной детекцией, генотипирование с универсальными праймерами выполнены автором лично. Секвенирование штаммов по Сэнгеру выполнено в рамках международного проекта Baltic Antibiotic Resistance collaborative Network (BARN) совместно с сотрудниками лаборатории молекулярной генетики г. Тарту Р. Naaber и А. Bilozor. Полногеномное секвенирование проведено совместно с сотрудниками института химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского отделения Российской академии наук и Новосибирского государственного университета к.м.н. М. Л. Филипенко, А. А. Кечиным и Д. С. Болдыревой.

Автор лично провел анализ, обобщение, статистическую обработку полученных результатов, сформулировал выводы, практические рекомендации и перспективы дальнейшего исследования.

### **Основные положения, выносимые на защиту**

1. *Escherichia coli* – возбудители диарейных заболеваний пяти патогрупп, характеризуются разнообразием биологических свойств и генов вирулентности, определяющих патогенетические особенности заболеваний. Молекулярно-генетические методы исследования обеспечивают достоверную идентификацию «классических» и гибридных патогрупп, антигенную характеристику возбудителя, снижая ошибки интерпретации результатов культурального метода.
2. *Escherichia coli* – возбудители заболеваний внекишечной локализации, характеризуются гетерогенностью детерминант вирулентности. Септические и менингеальные осложнения ассоциированы с конкретными генами вирулентности штаммов уропатогенных *E. coli*.
3. В общей популяции *E. coli* преобладают штаммы с множественной устойчивостью к антимикробным препаратам. Резистентность к цефалоспорином III – IV поколения обусловлена продукцией бета-лактамаз расширенного спектра генетического семейства CTX-M клональных групп CTX-M1 и CTX-M9.

4. В Российской Федерации циркулируют штаммы *E. coli*, принадлежащие к международным клонам высокого риска пандемического распространения – STEC O26:H11-B1-ST21 – возбудитель диарейных заболеваний и ExPEC O25:H4-B2-ST131- возбудитель внекишечных заболеваний.

5. Нормобиота кишечника человека является скрытым резервуаром устойчивых к антимикробным препаратам штаммов *E. coli* – возбудителей внекишечных инфекций, в том числе штаммов международного клона высокого риска ST131.

### **Степень достоверности и апробация результатов исследования**

Достоверность и обоснованность полученных результатов исследования основаны на использовании современных методологических подходов при лабораторной диагностике инфекционных заболеваний эшерихиозной этиологии. В работе использовали комплекс бактериологических и современных молекулярно-генетических методов исследований. Проведен достаточный объем исследований, позволивший корректно провести статистическую обработку полученных данных. Определение в штаммах *E. coli* генов, кодирующих факторы вирулентности, позволяет достоверно идентифицировать патогруппы диареегенных *E. coli*, патогенные *E. coli* – возбудители инфекций внекишечной локализации и *E. coli* – представителей нормобиоты кишечника.

Диссертационная работа выполнена в рамках отраслевой научно-исследовательской программы Роспотребнадзора «Проблемно ориентированные научные исследования в отрасли эпидемиологического надзора за инфекционными и паразитарными болезнями на 2016-2020 гг.», утвержденной Руководителем Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека А.Ю. Поповой 13.01.2016 г., приказ № 5; договор НИР «Совершенствование лабораторной диагностики бактериальных возбудителей диарейных заболеваний. Генетическое разнообразие факторов вирулентности, механизмов резистентности к антимикробным препаратам».

Диссертационная работа апробирована на заседании Ученого совета ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера 08 декабря 2020 г.



(протокол № 9).

Материалы диссертационной работы были доложены и представлены на 25<sup>th</sup> European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases in Copenhagen (Дания, 2015), Всероссийской научно-практической конференции по медицинской микробиологии и клинической микологии XVIII Кашкинские чтения (Санкт-Петербург, 2015), VII Ежегодном Всероссийском Конгрессе по инфекционным болезням с международным участием (Москва, 2015), II Национальном Конгрессе Бактериологов (Санкт-Петербург, 2016), XI съезде Всероссийского научно-практического общества эпидемиологов, микробиологов и паразитологов (Москва, 2017), Всероссийской научно-практической конференции по медицинской микробиологии и клинической микологии XX Кашкинские чтения (Санкт-Петербург, 2017), итоговой конференции по результатам Российско-Гвинейского научно-технического сотрудничества в области изучения эпидемиологии, профилактики и мониторинга бактериальных и вирусных инфекций в Гвинейской Республике в 2015-2017 гг. (Санкт-Петербург, 2017), X Ежегодном Всероссийском Конгрессе по инфекционным болезням с международным участием (Москва, 2018), XX международном конгрессе по антимикробной терапии МАКМАХ/ESCMID (Москва, 2018), международной конференции «Молекулярные основы эпидемиологии, диагностики, профилактики и лечения актуальных инфекций» (Санкт-Петербург, 2018), Всероссийском конгрессе по медицинской микробиологии, клинической микологии и иммунологии, посвященной памяти выдающегося микробиолога Н.П. Елинова XXI Кашкинские чтения (Санкт-Петербург, 2018), Всероссийской научно-практической конференции «Лабораторная диагностика – клинической медицине: традиции и новации», посвященной 95 – летию со дня рождения члена – корреспондента РАМН Б.Ф. Коровкина (Санкт-Петербург, 2018), международной конференции «Молекулярные основы эпидемиологии, диагностики, профилактики и лечения актуальных инфекций» (Санкт-Петербург, 2018), межрегиональной научно-практической конференции с международным участием «Вирусные инфекции и общество: проблемные вопросы диагностики,

лечения и профилактики» (Екатеринбург, 2018), XI Ежегодном Всероссийском Конгрессе по инфекционным болезням с международным участием (Москва, 2019), 37-th annual meeting of the European society for pediatric infectious diseases (Любляна, 2019), Российско-Вьетнамской научно-практической конференции «Актуальные направления и перспективы сотрудничества в области обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия» (Москва, 2019), Всероссийском ежегодном Конгрессе «Инфекционные болезни у детей: диагностика, лечение и профилактика» (Санкт-Петербург, 2019), XXI Международном Конгрессе по антимикробной терапии МАКМАХ/ESCMID (Москва, 2019), Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Научное обеспечение противоэпидемической защиты населения: актуальные проблемы и решения» (Нижний Новгород, 2019), Всероссийской научно-практической конференции по медицинской микробиологии и клинической микологии и иммунологии XXII Кашкинские чтения (Санкт-Петербург, 2019), VI Медицинском Конгрессе «Актуальные вопросы врачебной практики» (Ялта, 2019), V Национальном Конгрессе Бактериологов (Москва, 2019), V Российском Конгрессе лабораторной медицины РКЛМ 2019 (Москва, 2019), Российско-Вьетнамской научно-практической конференции «Актуальные направления и перспективы сотрудничества в области обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия» (Москва, 2019), Заседании отделения Всероссийского научно-практического общества эпидемиологов, микробиологов и паразитологов в Санкт-Петербурге и Ленинградской области (Санкт-Петербург, 2020), Всероссийской научно-практической конференции по медицинской микробиологии и клинической микологии и иммунологии XXIII Кашкинские чтения (Санкт-Петербург, 2020).

# ГЛАВА 1 СОВРЕМЕННОЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЕ О БИОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВАХ *ESCHERICHIA COLI* – ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ЗАБОЛЕВАНИЙ КИШЕЧНОЙ И ВНЕКИШЕЧНОЙ ЛОКАЛИЗАЦИИ, ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ НОРМОБИОТЫ КИШЕЧНИКА (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

## 1.1 Общие сведения о виде *E. coli*

Вид *Escherichia coli* (*E. coli*) объединяет группу бактерий, среди которых насчитывают большое число разновидностей, отличающихся по принадлежности к филогенетическим, клональным и серологическим группам, ферментативным и морфологическим свойствам, продукции колицинов, энтеро- и цитотоксинов, чувствительности к антибактериальным препаратам и бактериофагам, наличию генов вирулентности, определяющих патогенетические особенности заболеваний человека [23, 52, 104, 105, 190, 211, 228, 242, 258, 261, 305, 316, 318, 322, 354].

*E. coli* широко распространены в природе, являются облигатными микроорганизмами нормобиоты кишечника человека, млекопитающих животных, большинства птиц, рыб и насекомых. Поэтому *E. coli* является санитарно-показательным микроорганизмом – индикатором фекального загрязнения, поскольку при выделении с фекалиями в окружающую среду сохраняют жизнеспособность без изменения своих биологических свойств [132, 134, 139].

Комменсальные *E. coli* – представители микробиоты кишечника человека играют важную роль в обеспечении колонизационной резистентности, иммуностимулирующей, витамин образующей и ферментативной функций организма человека, а также обладают антимутагенным, антиканцерогенным свойствами [29, 110, 347]. Количественные и качественные изменения популяции *E. coli* в микробиоте кишечника человека могут приводить к развитию дисбиотических состояний [54, 92, 150].

Патогенность *E. coli* не является видовым признаком. Реализация патогенного потенциала и способность вызывать патологические изменения в организме человека ограничены генетическими детерминантами вирулентности конкретного штамма [35, 128, 167, 243, 354].

Высокая пластичность генома *E. coli* создает потенциал для появления штаммов, способных вызывать у человека широкий спектр заболеваний кишечной и внекишечной локализации. Известно, что патогенные штаммы произошли от комменсальных в результате горизонтального приобретения хромосомных и нехромосомных генов и оперонов [111, 248, 338, 342]. Пангеном *E. coli* состоит из консервативного ядра представленного ~ 2200 генами, которые содержат жизненно важную генетическую информацию, и гибкого генофонда, включающего мобильные генетические элементы (бактериофаги, плазмиды, транспозоны, интегроны) ~ 13000 уникальных генов, чем объясняется высокий потенциал разнообразия заболеваний, вызываемых *E. coli* [32, 338]. Приобретение нового генетического материала способствует быстрой эволюции и адаптации вида *E. coli* к новым и сложным экосистемам [354].

Патогенные для человека *E. coli* классифицируют на две большие группы «патотипы»: кишечные (diarrheagenic *E. coli*, DEC) и внекишечные (extraintestinal *E. coli*, ExPEC). Патотипы DEC и ExPEC различаются наличием генетических детерминант, которые кодируют экспрессию определенных факторов вирулентности патогенности и ассоциированы с патогенетическими и клиническими особенностями заболеваний [155, 190, 228, 277]. Штаммы ExPEC являются частью микробиоты кишечника здоровых людей, не вызывая диарейные заболевания [319, 336, 338, 342]. Патогенные *E. coli* вызывают заболевания в определенном биотопе/системе за счет различных комбинаций факторов вирулентности. Тканевой тропизм связан с избирательным взаимодействием адгезинов *E. coli* с рецепторами эпителиальных клеток различных органов или систем [10, 31, 36, 153, 260, 345].

## **1.2. Антигенная структура *E. coli***

Начиная с 1940-х годов F. Kaufmann (1943, 1944, 1947), основываясь на антигенном разнообразии штаммов *E. coli*, предложил использовать О-антигены в качестве биомаркеров при классификации *E. coli*. Позже F. Orskov & F. Orskov (1977) представили комплексную схему серотипирования *E. coli* трех полиморфных антигенов: 164 варианта липополисахаридных О-антигенов

клеточной стенки, 53 жгутиковых Н-антигенов и 100 капсульных К-антигенов. В настоящее время определены 188 О- и 11 «неофициально» используемых ОХ-антигенов [114, 159, 218, 294]. Кластер генов *rfb*, кодирующих О-антигены, расположен в хромосоме. Н-антиген обеспечивается экспрессией гена *fliC*, кодирующего синтез белка флагеллина –FliC [114, 183, 218]. По мере изучения *E. coli* схема серотипирования постоянно пополняется. По сочетанию О – или ОК – антигенов *E. coli* разделяют на серологические группы (серогруппы), по содержанию ОН – или ОКН – антигенов – серологические варианты (серовары). В результате комбинаций ОКН-антигенов число возможных сероваров превышает 100000 [294]. Количество часто встречающихся сероваров патогенных *E. coli* ограничено ~ 200. Тем не менее постоянно появляются штаммы, которые не диагностируются сыворотками к известным О –, Н – и К – антигенам. Предполагают, что по антигенной принадлежности в настоящее время охарактеризовано не более 1% популяции *E. coli* [190].

Много лет господствовало представление о том, что патогенность *E. coli* связана исключительно с принадлежностью к определенным О- антигенным группам, поэтому не уделялось должного внимания полному серологическому типированию, идентификация штаммов в практических лабораториях обычно ограничивалась определением только О-антигена. Известно, что О-антигенная характеристика не во всех случаях четко коррелирует с наличием факторов вирулентности, определяющих принадлежность штамма к DEC, ExPEC и авирулентным *E. coli* [30, 66, 105, 112, 120, 125, 138, 173, 188, 207, 285, 326, 335, 340]. В частности, из многочисленных серологических вариантов *E. coli* серогруппы O157 способностью продуцировать шигаподобные токсины (Stx) и вызывать геморрагические колиты обладают только штаммы серовара O157:H7 и его неподвижного «варианта» O157:H-, который, как показали исследования, в своем геноме содержат репрессированный ген *fliC<sub>H7</sub>*, ответственный за синтез антигена H7. Штаммы других сероваров O157:не-H7 выделяют во многих странах [177, 138, 321, 337]. *E. coli* O157:H45 были причиной диареей у людей и, судя по наличию генов *eae* и *bfpA* принадлежали к типичным энтеропатогенным *E. coli* (t-

ЕРЕС). Атипичные ЕРЕС (а- ЕРЕС) серовара *E. coli* O157:H16 и O157:H39 неоднократно выделяли от больных ОКИ детей и взрослых, пищевых продуктов и объектов окружающей среды [177]. Описаны непатогенные (авирулентные) серовары *E. coli* O157:не-Н7 (O157:H10, O157:H16, O157:H43) [207]. Некоторые *E. coli* имеют антигенные связи по О – антигену с другими энтеробактериями (*Shigella spp.*, *Salmonella spp.*, *Klebsiella spp.*) [174, 183, 159].

### **1.3 Филогенетические группы *E. coli***

В конце XX века для дифференциации *E. coli* на субвидовом уровне эволюционных связей была предложена филогенетическая классификация по четырем основным группам – А, В1, В2 и D (не верифицированные штаммы относили к неопределенной группе – U) [52, 160, 338]. Штаммы *E. coli*, принадлежащие к разным филогруппам, различаются по наличию факторов вирулентности, экологическим нишам и резервуарам, а также по другим характеристикам, включая ферментацию углеводов, скорость роста, устойчивость к антимикробным препаратам [134]. В 1998 г. G. Lecoindre с соавт. Установили, что группа В2 чаще представлена высоковирулентными внекишечными патогенными *E. coli*; группы А и В1 в отличие от В2 и D характеризуются меньшими размерами генома [287]. Многими исследователями показана связь между филогруппой и патогенностью штаммов *E. coli* [52, 134, 152, 167, 210, 242, 271, 285]. В начале 2000 г. О. Clermont с соавт. Разработали быстрый метод ПЦР (triplex Clermont PCR), основанный на детекции специфических маркеров филогенетических групп: генов *chuA* (транспорт гема) и *ujaA* (неизвестная функция) и фрагмента ДНК TSPE4.C2, кодирующего липазу/эстеразу [145]. Метод имеет высокую корреляцию с эталонным методом мультилокусного секвенирования-типирования (MLST). В последующие годы при изучении биоразнообразия штаммов *E. coli* установили, что патогенные штаммы, вызывающие внекишечные инфекции, в основном принадлежат филогенетической группе В2 и в меньшей степени к группе D, тогда как комменсальные штаммы – к группам А и В1, а кишечные патогенные – к группам А, В1 и D [37, 107, 110, 147, 266, 271, 285, 309, 314, 323, 342]. Изучение геномной

структуры *E. coli* показало, что принадлежность штамма к разным филогруппам, связана не только с возникновением заболевания, но и источником инфекции [134, 148, 152, 252]. Филогенетическая характеристика является важным инструментом для улучшения понимания структуры популяций *E. coli* и взаимосвязи между штаммом и заболеванием [147, 152, 338].

#### **1.4. Диареегенные *E. coli* (DEC)**

По данным Всемирной Организации Здравоохранения (ВОЗ) и Детского фонда ООН (ЮНИСЕФ) ежегодно в мире регистрируют около двух миллиардов случаев инфекционной диареи, объединяющей около 20 заболеваний бактериальной, вирусной, протозойной или гельминтной этиологии, которая является второй по частоте причиной заболеваемости и летальности (после пневмонии) детей в возрасте до пяти лет, в основном в развивающихся странах (78% приходится на страны Африки и Юго-Восточной Азии). Исследования, проведенные в Российской Федерации, свидетельствуют о высокой доле инфекционных болезней в структуре общей заболеваемости (36-49%) и отсутствии тенденции к ее уменьшению в последние годы [70].

По оценкам Всемирного Банка, среди четырех ведущих причин ущерба, наносимого человечеству всеми болезнями и травмами, три относят к инфекционным и паразитарным болезням (диареи, кишечные гельминтозы и туберкулез). Каждый год умирают 1,9 млн детей, что составляет 18% всей детской смертности в этой возрастной группе и означает, что каждый день от диарейных заболеваний умирает более 5000 детей [14, 349, 364, 366]. Увеличение доли летальных исходов при диарее связывают с септическими формами протекания бактериальных, вирусных и паразитарных инфекций. Традиционно для определения типов диареи основываются не на этиологии заболевания, а на продолжительности симптомов. В обзорной работе, объединившей 138 исследований, В.С. Johnston с соавт. Выделили 64 типа диареи и 68 ее определений [225]. Тем не менее, наиболее используемыми являются термины и определения, поддерживаемые ВОЗ, а именно «острая», «продолжительная» и «хроническая» диарея [14, 336].

Ежегодно в Российской Федерации регистрируют от 35 до 40 млн случаев инфекционных и паразитарных заболеваний. В индустриальных странах и регионах диарея развивается в 0,5–2 случаях на душу населения в год. Так, в США ежегодно регистрируют более 100 млн случаев диареи, которые составляют около 25% всех госпитализаций. В результате того, что диарейным заболеваниям подвержены трудоспособное население и дети, они наносят значимый социальный и экономический ущерб [5, 19, 47, 70, 98, 135, 364]. В течение последних десятилетий, несмотря на прогресс в области медико-социальных технологий, глобальное значение инфекционной диареи не уменьшилось, а скорее возросло в связи с высокой интенсивностью туризма, миграцией и перемещением больших групп населения [74]. В настоящее время инфекционную диарею рассматривают и с позиции угрозы терроризма [71]. Наибольшему риску неблагоприятного течения и угрожающей жизни диареи подвержены дети до пяти лет, взрослые старше 60 лет и лица со сниженным иммунитетом, к которым относят злоупотребляющих алкоголем, применяющих кортикостероиды, перенесших химио – и/или лучевую терапию и трансплантацию органов, и/или пересадку стволовых клеток, страдающих системными заболеваниями крови, живущие с синдромом приобретенного иммунодефицита [74].

В 2013 г. ВОЗ разработала комплексный Глобальный план действий по профилактике и борьбе с диареей (GAPPD). Успешная реализация этой стратегии должна способствовать снижению смертности от диареи до менее 1,0 на 1000 человек к 2025 г. [19, 366].

Острые кишечные инфекции, обусловленные диареегенными *E. coli*, характеризуются поражением желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) с развитием диарейного синдрома, интоксикации и в некоторых случаях генерализации патологического процесса. Штаммы DEC отличаются от непатогенных *E. coli* по наличию определенных генов вирулентности, особенностям патогенеза и клинико-эпидемиологических проявлений, вызываемых ими заболеваний [24, 47, 55, 128, 150]. *E. coli*, вызывающие диарею, в соответствии с детерминантами вирулентности классифицируют на патогенные группы (патогруппы) [190, 277,



316, 333]. Специфическая природа этих детерминант наделяет каждую патогруппу способностью вызывать заболевание с характерными патологическими синдромами. В настоящее время различают шесть патогрупп DEC: – энтеропатогенные/enteropathogenic *E. coli* (EPEC); – энтеротоксигенные/enterotoxigenic *E. coli* (ETEC); – энтероинвазивные/ enteroinvasive *E. coli* (EIEC); – шигатоксин-продуцирующие/shiga toxin – producing *E. coli* (STEC); – энтероаггегативные/enteroaggregative *E. coli* (EAgEC); – диффузно-адгерентные/прикрепляющиеся/diffusely adherent *E. coli* (DAEC) [154, 190, 228, 277]. По мнению ряда исследователей, выделение DAEC в отдельную патогруппу требует дополнительных экспериментальных доказательств [194, 255, 273].

Активный обмен генетической информацией обеспечивает естественное появление штаммов, обладающих наборами генов вирулентности, характерными для разных патотипов и патогрупп [41 111, 190]. Ярким примером является *E. coli* O104:H4, вызвавшая крупную вспышку ОКИ в Германии в 2011 г., относящаяся к «гибридной» группе – энтероаггегативных шигатоксин-продуцирующих [122, 312]. После вспышки многими научными исследованиями было показано, что это явление встречается чаще, чем предполагалось ранее. Поэтому термины «гибридная» и «гетерогенная» *E. coli* стали использоваться для описания новых комбинаций факторов вирулентности среди классических патотипов *E. coli* и патогрупп DEC [40, 129, 141, 199, 217, 240, 289, 322].

Штаммы каждой патогруппы DEC характеризуются конкретными патогенетическими механизмами, обеспечивающими развитие воспалительного процесса в разных отделах кишечника человека, клинически проявляющегося диарейным синдромом [55, 190, 271, 273, 277].

#### **1.4.1 Энтеропатогенные *E. coli* (EPEC)**

EPEC вызывают заболевания у детей раннего возраста с преимущественным поражением тонкого кишечника («коли-инфекция, колиэнтерит») [144, 184, 190, 225, 227, 290, 371].

EPEC обладают способностью к «плотной» адгезии и размножению на поверхности эпителиальной плазматической мембраны тонкого кишечника с

последующим разрушением микроворсинок энтероцитов и апикальной поверхности эпителия. «Потеря» адсорбирующих ворсинок в зоне адгезии ЕРЕС, ведет к диарее за счет нарушения электролитного баланса и мальабсорбции [277, 345]. От других патогрупп DEC энтеропатогенные *E. coli* отличаются наличием острова патогенности (locus of enterocyte effacement, LEE – локус «сглаживания» энтероцитов), который кодирует ряд важных факторов вирулентности, в том числе белок наружной мембраны – интимин (продукт гена *eae*), необходимый для создания ключевого механизма патогенности ЕРЕС - «прикрепления и сглаживания» (attaching and effacing (АЕ-активность)) энтероцитов и плазмиду фактора адгезии ЕРЕС (pEAF), кодирующей формирующие пучки пили Vfr (Bundle-forming pili), необходимые для адгезии с эпителиальными клетками кишечника [179, 231, 277, 346].

По наличию или отсутствию pEAF ЕРЕС классифицируют на типичные (t-ЕРЕС) и атипичные (a-ЕРЕС). Атипичные ЕРЕС не имеют pEAF и, следовательно, не продуцируют Vfr [153, 190, 194, 202, 251, 275].

В 1987 г. ВОЗ признала, что ЕРЕС включают штаммы 12 О – серогрупп (O26, O55, O86, O111, O114, O119, O125, O126, O127, O128, O142 и O158) [213, 227]. За последние 20 лет список сероваров ЕРЕС значительно расширился, в настоящее время с этой патогруппой ассоциируют штаммы 22 О-серогрупп и 60 сероваров [304, 341]. В таблице 4 представлены классические и новые О:Н серовары ЕРЕС.

С 90-х годов XX века прогресс в понимании молекулярных аспектов патогенеза ЕРЕС позволил исследователям выйти за рамки серологических групп, которые не всегда коррелируют с заболеванием и разработать определение, основанное на характеристике патогенности. В 1995 г. на Втором международном симпозиуме по ЕРЕС было принято следующее определение этой патогруппы DEC: «ЕРЕС – это диареегенные *E. coli*, которые вызывают характерную гистопатологию, известную как (А/Е) и не продуцируют шигаподобные токсины. Типичные ЕРЕС (t- ЕРЕС) обладают плазмидой вирулентности EAF (фактор адгезии ЕРЕС), которая кодирует локальную адгезию с эпителиальными клетками

Таблица 4 – Серологические варианты ЕРЕС

| О-антиген | Н-антиген                         | Комментарии                                         |
|-----------|-----------------------------------|-----------------------------------------------------|
| O18       | H7                                |                                                     |
| O20       | H26; H34                          |                                                     |
| O25       | H1                                |                                                     |
| O26       | H <sup>-</sup> ; H11              | O26: H <sup>-</sup> и O26:H11 могут быть также STEC |
| O44       | H34                               |                                                     |
| O55       | H <sup>-</sup> ; H6; H7           | O55:H7, H10 и H <sup>-</sup> могут быть также STEC  |
| O75       | H-                                |                                                     |
| O86       | H <sup>-</sup> ; H8*; H27; H34    | O86: H <sup>-</sup> могут быть также EAgEC          |
| O88       | H <sup>-</sup> ; H25              |                                                     |
| O91       | H7; H <sup>-</sup>                |                                                     |
| O103      | H2*                               |                                                     |
| O111      | H <sup>-</sup> ; H2; H7; H12      | O111: H <sup>-</sup> могут быть также STEC          |
| O114      | H <sup>-</sup> ; H2; H10; H32     |                                                     |
| O119      | H <sup>-</sup> ; H2; H6           |                                                     |
| O125      | H <sup>-</sup> ; H6; H21          | O125 могут быть также EAgEC                         |
| O126      | H <sup>-</sup> ; H2; H21; H27     |                                                     |
| O127      | H <sup>-</sup> ; H6; H9; H21; H40 |                                                     |
| O128      | H <sup>-</sup> ; H2; H7; H8; H12  | O128:H2 может быть также STEC                       |
| O142      | H <sup>-</sup> ; H6; H34          |                                                     |
| O145      | H <sup>-</sup> *; H45*            |                                                     |
| O157*     | H8*; H10; H16*; H45               |                                                     |
| O158      | H <sup>-</sup> ; H23              |                                                     |

Примечание: \* - новый серовар ЕРЕС

кишечника, пиями BFP, а- ЕРЕС не имеют эту плазмиду. Большинство штаммов t- ЕРЕС относят к определенным хорошо известным О:Н сероварам» [227,251].

Эпидемиологические исследования штаммов t-ЕРЕС и а-ЕРЕС показали, что t-ЕРЕС остаются ведущей причиной тяжелых детских диарей в развивающихся странах [108, 272, 277, 306, 346]. В тоже время, а-ЕРЕС являются возбудителями ОКИ не только детей, но и взрослых в индустриально развитых странах [190, 202, 251, 290]. Штаммы t-ЕРЕС относят к возбудителям антропонозной инфекции, при которой человек является единственным источником, ведущий путь передачи – контактный, который реализуется в условиях детских стационаров и лечебно-профилактических учреждениях [346, 371]. Атипичные ЕРЕС вызывают диарейные заболевания у детей и взрослых,

являются возбудителями зоонозных инфекций, резервуаром являются животные (чаще КРС), ведущим фактором передачи – пищевые продукты животного происхождения. В научной литературе «атипичные ЕРЕС» принято называть как «ЕРЕС, не продуцирующие шигаподобные токсины» [202, 275]. Полученные данные показали, что штаммы а-ЕРЕС представляют зоонозный риск для человека и подтверждают концепцию о том, что животные являются источником инфекции а-ЕРЕС у людей [139, 147, 152, 172, 190, 211, 370].

#### **1.4.2 Энтеротоксигенные *E. coli* (ETEC)**

ETEC остаются основной причиной спорадических и групповых «холероподобных» диарей у детей в развивающихся странах тропического и субтропического поясов; вызывают до 40% ОКИ детей раннего возраста, находящихся на искусственном вскармливании [307]. В экономически развитых странах ETEC вызывают «диарею путешественников» у туристов, посещающих неблагополучные по ETEC-инфекции регионы [190, 307]. Среди ETEC встречаются штаммы, вызывающие диарею у человека и различных видов домашних животных. Это связано со специфическими факторами колонизации и эпителиальными рецепторами кишечника, т. е. ETEC патогенны для животных не способны колонизировать тонкий кишечник человека [201].

Ключевыми факторами патогенности ETEC являются адгезия, обеспечивающая колонизацию энтероцитов и продукция энтеротоксинов, вызывающих нарушение электролитного баланса в клетках кишечного эпителия, приводящее к профузной диарее. Адгезия и колонизация ETEC на эпителиальных клетках тонкого кишечника человека осуществляется за счёт фимбриальных факторов группы CFA (антигены факторов колонизации), кодируемых генами *cfa*, которые могут быть локализованы в хромосоме и на плазмидах [181, 277, 362]. Энтеротоксины – термолабильный (LT) и термостабильный (ST) различаются по своим свойствам и механизму действия. По данным литературы оба токсина одновременно синтезируют  $\approx 5\%$  популяции ETEC, LT  $\sim 25\%$ , ST  $\sim 70\%$  [40, 190]. Термолабильный токсин по структурным, антигенным характеристикам и механизму действия подобен холерному токсину – инактивирует регуляторный

белок, контролирующий активность аденилатциклазы базолатеральной мембраны энтероцитов, что приводит к увеличению внутриклеточного уровня циклического аденозин монофосфата (цАМФ), стимуляции активной секреции анионов хлора и ингибированию абсорбции хлорида натрия, что является причиной обильной диареи секреторного типа. Известны две разновидности LT-токсина: LT1 – продуцируемый штаммами, выделяемыми от человека и LT2 – схожий с ним по строению и биологическим свойствам энтеротоксин, продуцируемый штаммами *E. coli* животного происхождения. LT1 кодируется *eltI* геном, расположенным на плазмидах, LT2 – геном *eltII*, расположенным в хромосоме [181, 228, 277]. Термостабильный токсин вызывает в энтероцитах нарушение транспорта ионов железа, потерю электролитов и уменьшение абсорбции натрия с последующим выходом большого количества жидкости в просвет кишечника. Известны две разновидности ST: Sta (ST1) и STb (ST2). В свою очередь Sta включает STp («свиной» ST, ST1a) и STb («человеческий» ST, ST1b) токсины, схожие по своей структуре и механизму действия. Рецептором для Sta является клеточная гуанилатциклаза, её активация повышает уровень циклического гуанозин монофосфата (цГМФ) в энтероцитах, что приводит к потере электролитов и нарушению абсорбции хлорида натрия, тем самым вызывая обильную секрецию жидкости в просвет кишечника. STb относится к группе мембрано-повреждающих токсинов. Рецептор для STb в настоящее время не установлен, в отличие от Sta не повышает уровень цГМФ, но стимулирует секрецию энтероцитами бикарбонатов, простагландина E<sub>2</sub> и серотонина. Токсины Sta и STb кодируются *estA* и *estB* генами, расположенным на плазмидах [190, 226, 228, 277]. Гены, кодирующие CFA, расположены «по соседству» с генами, кодирующими энтеротоксины, одновременная экспрессия *cfa*- и *tox*-генов обеспечивает вирулентность ЕТЕС. Без колонизирующих факторов энтеротоксины патогенетически инертны точно так же, как CFA-адгезины без токсинов [201].

ЕТЕС ассоциируют с ограниченным числом О-групп и О:К:Н сероваров. В таблице 5 представлены известные и наиболее распространенные серовары ЕТЕС, вызывающие ОКИ у людей [190, 226, 341, 362].

Таблица 5 – Серологические варианты ЕТЕС

| О-<br>группа | (К):Н антиген                            | О –<br>группа | (К):Н антиген                               |
|--------------|------------------------------------------|---------------|---------------------------------------------|
| O6           | NM, K15:H16*                             | O85           | H7                                          |
| O7           | NM, H18                                  | O86           | H2                                          |
| O8           | K47:NМ, K25:H9*; K40:H9; H10;<br>K87:H19 | O88           | H25                                         |
| O9           | NM; K9, K84:H2                           | O105          | H?                                          |
| O11          | H27*                                     | O114          | NM, H21                                     |
| O15          | H11*; H15; H45                           | O115          | NM, H2; H40; H51                            |
| O17          | K23:H45; H18                             | O119          | H6                                          |
| O20          | NM; H30                                  | O126          | NM H9; H12                                  |
| O21          | H21                                      | O128          | H7*; H12; H19; H21                          |
| O25          | NM*; K7:H42*; H16                        | O133          | H16                                         |
| O27          | H7*; H20; H27                            | O138          | K81                                         |
| O29          | H?                                       | O139          | H28                                         |
| O48          | H26                                      | O141          | NM; H4                                      |
| O55          | H7                                       | O147          | NM                                          |
| O56          | NM                                       | O148          | H28*                                        |
| O63          | H12; H30                                 | O149          | H4; H10*; H19                               |
| O64          | NM                                       | O153          | H10                                         |
| O65          | H12                                      | O159          | NM; H2; H4; H5; H12; H20*;<br>H21; H34; H37 |
| O71          | H36                                      | O166          | H27                                         |
| O73          | H45                                      | O167          | H5                                          |
| O77          | H45                                      | O?            | H2; H10; H28; K39:H32                       |
| O78          | NM, K2:H1; H12*                          |               |                                             |

Примечание: \*-распространенные серовары ЕТЕС

### 1.4.3. Энтероинвазивные *E. coli* (EIEC)

EIEC широко распространены в странах с низким уровнем доходов, клинически протекают как бактериальная дизентерия [190, 201, 280, 298].

Патогенез EIEC-инфекции связан со способностью бактерий проникать в слизистую оболочку толстой кишки человека, что обусловлено экспрессией хромосомных и плазмидных генов [330, 348]. После инвазии в эпителиальные клетки толстой кишки EIEC реплицируются внутриклеточно и распространяются в соседние клетки, вызывая воспалительное разрушение кишечного эпителиального барьера, что проявляется характерным синдромом дизентерии: наличием крови, слизи и лейкоцитов в стуле [277].

Таксономическая близость EIEC и *Shigella* spp., идентичность патогенеза,

факторов и генов вирулентности проявляется в схожести клинических проявлений заболевания. Инфекционная доза ЕИЕС значительно выше, чем у *Shigella*, а заболевания, вызываемые ЕИЕС, в некоторых случаях протекают в более легкой форме [234, 298, 348].

Важным для полного фенотипического выражения патогенности *Shigella spp.* И ЕИЕС является наличие основного гена инвазивного плазмидного антигена Н (*ipaH*), расположенного на хромосоме в составе большой плазмиды F-типа (pINV), отвечающего за размножение и распространение возбудителя в и вне эпителиальных клеток, а также в просвете кишки. Наличие pINV характерно только для *Shigella spp.* И ЕИЕС, ее потеря – очень редкое явление, которое определяет авирулентный фенотип штамма [330]. Другие гены вирулентности, расположенные на внехромосомных плазмидах, играют вспомогательную роль в обеспечении взаимодействия возбудителя с эпителием и могут быть неравномерно распределены в штаммах *Shigella spp.* И ЕИЕС, они кодируют белки, влияющие на индукцию генов инвазии в ответ на высокое осмотическое давление в толстой кишке (*ial*) и регуляцию транскрипции генов инвазивности (*invE*). Детекция только генов, расположенных на внехромосомных плазмидах, может приводить к ложноотрицательным результатам, так как штаммы часто теряют эти плазмиды [277, 348, 351].

Первое сообщение о ЕИЕС датируют 1947 г. (Ewing 1947). Изначально они были определены как «*paracolon bacillus*», но позже идентифицированы как *E. coli* O124. В 1950-х и 1960-х годах, выделенные при дизентерии *E. coli*, вызывающие экспериментальный кератоконъюнктивит у морских свинок, были идентифицированы как *Shigella manolovi*, *Shigella sofia* и *S. metadysenteriae*, позднее были переименованы в ЕИЕС [348]. Биохимические особенности ЕИЕС были впервые описаны в 1967 г., подобно *Shigella*, большинство штаммов ЕИЕС не декарбоксилируют лизин, не ферментируют лактозу и, как правило, неподвижны [190, 298, 348]. За счет таксономической близости (один геновид) ЕИЕС и *Shigella spp.* Обладают несколькими общими фенотипическими и генотипическими характеристиками, что часто затрудняет их дифференциацию, особенно в случае

О- антигенных связей (перекрестных реакций) [104, 190, 351]. В результате этого нередко происходит искажение интерпретации эпидемиологической информации, затрудняя оценку реального бремени инфекций, обусловленных ЕИЕС.

С патогруппой ЕИЕС ассоциировано ограниченное число сероваров, а именно O28ac: H-, O29: H-, O112ac: H-, O115: H-, O121: H-, O124: H-, O124: H7, O124: H30, O124: H32, O135: H-, O136: H-, O143: H-, O144: H-, O144: H25, O152: H-, O159:H-, O159:H2, O164: H-, O167: H -, O167: H4, O167: H5, O173: H-, и недавно O96: H19 [265, 298, 348]. Некоторые из этих ЕИЕС – ассоциированных О-антигенов, такие как O28, O112ac, O121, O124, O143, O144, O152 и O167 имеют антигенные связи с О-антигенам *Shigella* spp. [158, 159, 174, 183, 298, 341, 348].

Человек, инфицированный ЕИЕС, является основным источником инфекции. ОКИ, обусловленные ЕИЕС, встречаются во всех странах, широко распространены в странах с низким уровнем доходов, неудовлетворительные санитарно-гигиенические условия способствует их распространению [154, 190, 280, 348]. В некоторых странах Латинской Америки и Азии (Чили, Бразилии, Таиланде, Индии) ЕИЕС являются частой причиной ОКИ [298]. В промышленно развитых странах вспышки ЕИЕС редки; заболевания в основном регистрируют как спорадические случаи и часто связаны с туристами, возвращающимися из стран с высокой заболеваемостью [265, 298]. Вспышки ЕИЕС были зарегистрированы в Венгрии (1959 г.), в США (1970 г.), в Чехословакии (1982 г.), в Израиле (1990 г.) [282]. В последнее время в Европе наблюдается рост случаев ЕИЕС – инфекций. В 2012 г. в Италии была зарегистрирована вспышка колита, охватившая более 100 человек, вызванная новым сероваром ЕИЕС O96:H19 [168]. В 2014 г. ЕИЕС этого серовара были причиной двух вспышек эшерихиоза в Великобритании [282].

#### ***1.4.4 Шигатоксин-продуцирующие E. coli (STEC)***

STEC широко распространены во всех странах, являются причиной заболеваний, связанных с пищевыми продуктами, характеризуются широким спектром клинических проявлений, от легкой водянистой диареи до гемоколита (ГК) и гемолитического уремического синдрома (ГУС), проявляющегося в виде триады симптомов: гемолитической анемии, тромбоцитопении и острой почечной



недостаточности. Естественным резервуаром STEC служит кишечник крупного и мелкого рогатого скота, свиней, реже других животных. К активным факторам передачи относят сырые или недостаточно термически обработанные мясо, молоко, а также вторично контаминированные продукты. Больной человек может представлять потенциальную опасность для окружающих, как источник [76, 101, 132, 135, 139, 172, 229, 237, 238, 303, 343, 352, 353, 368].

Основным фактором вирулентности штаммов этой патогруппы DEC является продукция одного или нескольких цитотоксинов семейства шига токсинов (Stx), синтез которых обеспечивается генами, расположенными на ДНК конвертирующего умеренного бактериофага. Известны два типа Stx (Stx 1 и Stx2). Токсин Stx1 – структурно и антигенно идентичен токсину Шига *Shigella dysenteriae* I (90% гомологии), Stx2 – менее 60%. Штаммы *E. coli* могут продуцировать один Stx1 или Stx2 и/или одновременно оба токсина. Stx2 более вирулентен, чем Stx1 [101, 175, 182, 228, 277, 297, 324]. Установлено, что при заболеваниях, вызванных штаммами, продуцировавшими Stx2, ГУС развивался в 6,8 раза чаще, чем при инфекциях, вызванных штаммами, продуцировавшими Stx1 или одновременно Stx1 и Stx2 [112, 121, 123, 303].

STEC, которые имеют дополнительные факторы вирулентности (интимин и энтерогемолизин), ассоциированные с тяжелым течением инфекции у человека, называют энтерогеморрагическими *E. coli* (ЕНЕС) [76, 176, 190, 202, 299]. Патогенетической особенностью ЕНЕС в отличие от STEC является «плотная» адгезия с эпителиальными клетками кишечника, так же как у ЕРЕС, которую обеспечивает белок наружной мембраны – интимин, кодируемый геном *eae*, расположенным в локусе «прикрепления – сглаживания/стирания» энтероцитов (LEE) островка патогенности [101, 112, 122, 238, 277, 260, 315, 353].

Серовар *E. coli* O157: H7 был описан первым в связи со случаями ГК и ГУС в начале 1980-х годов. На сегодняшний день он остается важным сероваром STEC в мире, с которым связаны многочисленные вспышки и спорадические случаи ГК, и ГУС [135, 136, 154, 171, 178, 180, 236, 277, 352]. В настоящее время известны более 100 сероваров STEC, вызывающих инфекции у человека (Таблица 6) [117,

118, 187, 188, 177, 208 239, 299, 340, 350].

Таблица 6 – Перечень сероваров STEC

| №  | Серовар | №  | Серовар | №  | Серовар   | №   | Серовар  | №   | Серовар  |
|----|---------|----|---------|----|-----------|-----|----------|-----|----------|
| 1  | O1:NM   | 31 | O39:H4  | 61 | O98:NM    | 91  | O121:H7  | 121 | O157:NM  |
| 2  | O1:H20  | 32 | O40:H8  | 62 | O101:H19  | 92  | O121:H19 | 122 | O157:H7  |
| 3  | O2:NM   | 33 | O43:H2  | 63 | O103:H2   | 93  | O125:NM  | 123 | O163:H2  |
| 4  | O2:H5   | 34 | O45:H2  | 64 | O103:H?   | 94  | O125:H8  | 124 | O163:H19 |
| 5  | O2:H7   | 35 | O46:31  | 65 | O103:NM   | 95  | O126:NM  | 125 | O165:NM  |
| 6  | O2:H29  | 36 | O46:38  | 66 | O111:NM   | 96  | O126:H8  | 126 | O165:H19 |
| 7  | O2:H39  | 37 | O46:H?  | 67 | O111:H2   | 97  | O126:H27 | 127 | O165:H25 |
| 8  | O4:NM   | 38 | O48:H21 | 68 | O111:H8   | 98  | O128:NM  | 128 | O171:H2  |
| 9  | O4:H10  | 39 | O49:NM  | 69 | O111:H11  | 99  | O128:H2  | 129 | O172:NM  |
| 10 | O5:NM   | 40 | O50:H7  | 70 | O111:H30  | 100 | O128:H8  | 130 | OX3:H21  |
| 11 | O5:H16  | 41 | O50:NM  | 71 | O111:H34  | 101 | O128:H12 | 131 | O?:H2    |
| 12 | O6:H1   | 42 | O55:H7  | 72 | O111:H?   | 102 | O128:H25 | 132 | O?:H4    |
| 13 | O6:H3   | 43 | O55:H10 | 73 | O112ab:H2 | 103 | O128:H35 | 133 | O?:H7    |
| 14 | O6:H34  | 44 | O65:H16 | 74 | O113:H2   | 104 | O132:NM  | 134 | O?:H8    |
| 15 | O6:H?   | 45 | O69:H11 | 75 | O113:H4   | 105 | O136:H12 | 135 | O?:H10   |
| 16 | O7:H4   | 46 | O74:H?  | 76 | O113:H7   | 106 | O136:H16 | 136 | O?:H12   |
| 17 | O8:H19  | 47 | O76:H19 | 77 | O113:H21  | 107 | O139:H19 | 137 | O?:H16   |
| 18 | O15:NM  | 48 | O76:H25 | 78 | O113:NM   | 108 | O145:NM  | 138 | O?:H19   |
| 19 | O15:H27 | 49 | O76:H?  | 79 | O114:H48  | 109 | O145:H8  | 139 | O?:H21   |
| 20 | O18:H7  | 50 | O80:NM  | 80 | O115:H8   | 110 | O145:H16 | 140 | O?:H25   |
| 21 | O18:H11 | 51 | O82:H8  | 81 | O115:H10  | 111 | O145:H25 | 141 | O?:H32   |
| 22 | O18:NM  | 52 | O84:H2  | 82 | O115:H18  | 112 | O146:H8  | 142 | O?:H?    |
| 23 | O18:H?  | 53 | O84:NM  | 83 | O116:H21  | 113 | O146:H21 | 143 | OR:NM    |
| 24 | O22:H8  | 54 | O84:H?  | 84 | O116:NM   | 114 | O153:H21 | 144 | OR:H2    |
| 25 | O22:H16 | 55 | O91:NM  | 85 | O117:H4   | 115 | O153:H25 | 145 | OR:H25   |
| 26 | O25:NM  | 56 | O91:H10 | 86 | O118:H12  | 116 | O153:NM  | 146 | OR:H?    |
| 27 | O26:NM  | 57 | O91:H14 | 87 | O118:H16  | 117 | O156:H7  |     |          |
| 28 | O26:H11 | 58 | O91:H21 | 88 | O118:H30  | 118 | O156:H25 |     |          |
| 29 | O26:H32 | 59 | O91:H?  | 89 | O118:NM   | 119 | O156:NM  |     |          |
| 30 | O38:H21 | 60 | O98:H25 | 90 | O121:NM   | 120 | O156:H?  |     |          |

Многочисленные международные эпидемиологические исследования показали, что к широко распространенным сероварам, вызывающим заболевания человека относят: *E. coli* O26:H11, O45:H2, O103:H2, O111:H8, O121:H19, O145:H28, которые включены в так называемую «большую шестерку не-O157» [57, 121, 130, 132, 135, 136, 192, 236, 252, 297, 353].

Среди STEC, серовар O26:H11 является вторым по частоте выделения от

человека и животных после O157:H7 во многих странах. В период 2010 – 2014 гг. 19 стран ЕС / ЕЭЗ (Австрия, Бельгия, Чехия, Дания, Франция, Германия, Венгрия, Ирландия, Италия, Литва, Люксембург, Нидерланды, Норвегия, Польша, Румыния, Словения, Испания, Швеция и Соединенное Королевство) сообщили о 2356 подтвержденных случаев STEC O26 (в среднем 379 случаев в год). В 2015 г. В Европейской системе эпиднадзора (TESSy) зарегистрированы 463 случая заболеваний, обусловленных STEC O26. Осложнение в виде ГУС развилось в 11% случаев, из них 86% у детей в возрасте до четырех лет. По данным шести стран, штаммы STEC O26 продуцировали оба шигаподобных токсина (Stx1, Stx2) и имели адгезин интимин [121, 135, 136, 139, 212, 350, 368]. Широкое международное распространение получили штаммы *E. coli* O26:H11 двух сиквенс-типов ST21 и ST29, которые обнаруживали в странах, в которых ведется надзор за ЕНЕС-инфекцией (Япония, США, Австралия, ЕС / ЕЭЗ) [123, 291]. По данным отчетов Европейского агентства по безопасности пищевых продуктов (EFSA) и Центра по профилактике и контролю заболеваний (ECDC) *E. coli* O26:H11 часто выделяют из проб пищевых продуктов [135, 136, 171, 172, 367, 368]. Штаммы *E. coli* O26:H11 сиквенс-типа ST21, продуцирующие Stx1a, преобладали в клинических образцах, пробах пищевых продуктов и у КРС. В то же время во многих странах появляются штаммы, содержащие ген *stx2a* [123, 192, 291]. Недавно в Европе в качестве причины ГУС был идентифицирован высоковирулентный клон *E. coli* O26:H11 сиквенс-типа ST29, так называемый, «новый европейский клон», который вызывает серьезную обеспокоенность во многих странах, так как продуцирует высоковирулентный Stx2a [212]. Тем не менее штаммы ST21, по сравнению с ST29, имеют больше дополнительных генов вирулентности: *ehxA* – энтерогемолизин; *katP* – каталаза-пероксидаза; *espP* – сериновая протеаза; *etpD* – эффектор системы типа II, и существует высокий риск дальнейшей эволюции ST21 в высоковирулентный клон [123].

ГУС, вызванный STEC, в среднем составляет 2,1 на 100 тыс. у детей до пяти лет – 6,1 на 100 тыс. [101, 180]. По данным ECDC ГУС, вызванный *E. coli* O157:H7, развивается до 7% случаев при спорадических заболеваниях и в 20%

при вспышках [171, 172]. Проспективные исследования, проведенные в США, показали, что при STEC-инфекциях у детей до 5 лет ГУС развился в 12,9% случаев, от 5 до 10 лет – 6,8%, у детей старше 10 лет – 8% [135, 367, 368]. В 2015 г. показатели STEC не-O157 и STEC O157 составили 1,65 и 0,95 случаев на 100 тыс. В 2018 г. в ЕС / ЕЭЗ было зарегистрировано значительное увеличение случаев ОКИ, обусловленных STEC, и в структуре зоонозных инфекций они заняли третье место после кампилобактериоза и сальмонеллеза [171, 172].

В 2015 г. ВОЗ впервые опубликовала результаты оценки глобального бремени болезней, связанных с пищевыми продуктами, согласно которым в 2010 г. заболели более 600 млн человек, вызванными 31 микробиологическим и химическим агентами (включая STEC), что привело к 420 тыс. смертей и 33 млн лет жизни с поправкой на инвалидность (Daly). STEC пищевого происхождения вызвали более 1 млн заболеваний и более 100 смертей, и почти 13 000 Daly. В связи с этим, STEC были признаны глобальной проблемой. Результаты, полученные FAO и ВОЗ, а также анализ экспертной и научной литературы показали, что STEC-инфекции регистрируют в большинстве стран (Рисунок 1).

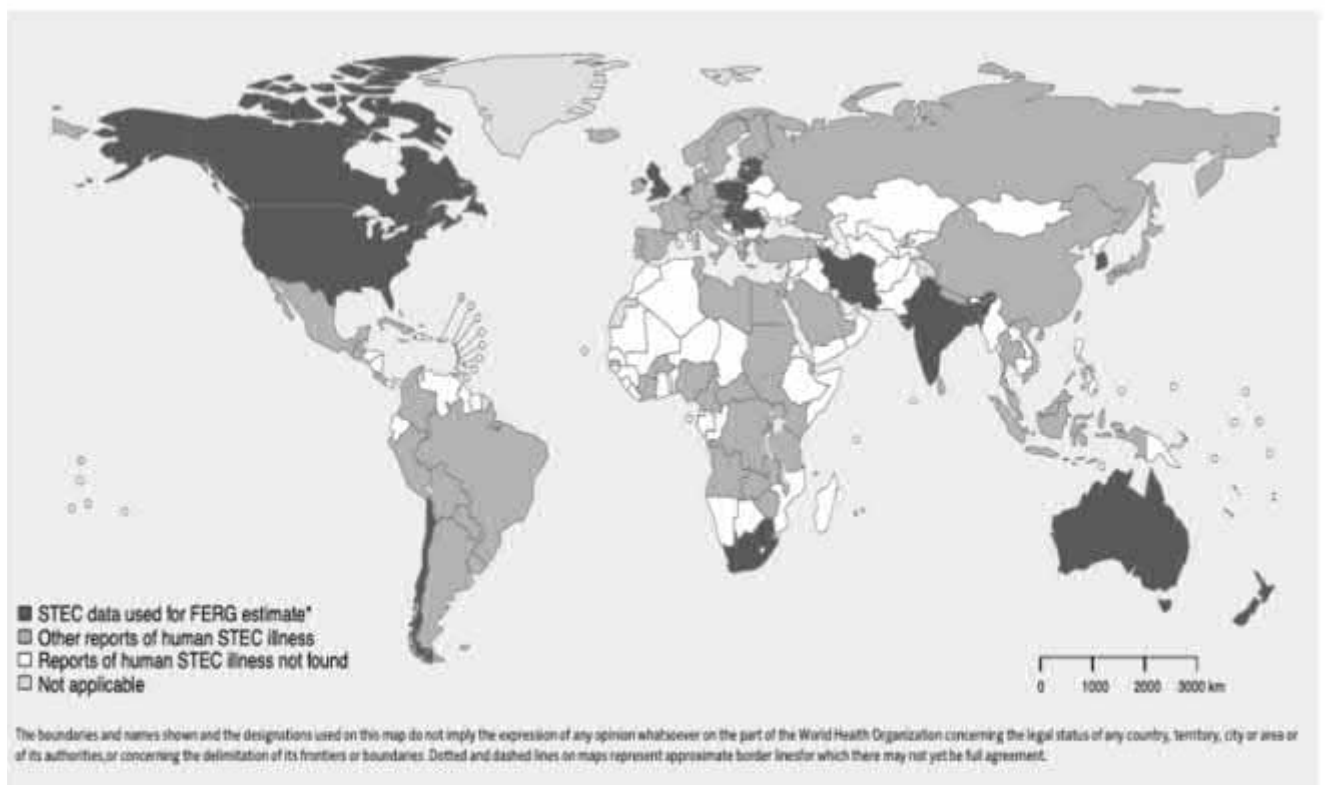


Рисунок 1 – Страны, в которых регистрируют STEC-инфекции [368]

С точки зрения профилактики и лечения STEC – инфекции оказывают экономическое воздействие, которое имеет последствия для внутренней и международной торговли. В 2018 г. в отношении STEC были разработаны критерии риска обеспечения качества и безопасности пищевых продуктов в современных социально-экономических условиях. Описаны сотни сероваров STEC, однако, основываясь на доказательствах, собранных в ходе анализа, эксперты ВОЗ пришли к выводу, что принадлежность к серологической группе, а в некоторых случаях и серологическому варианту, не следует рассматривать в качестве надежного критерия вирулентности штамма и оценки риска. В тоже время, серовар штамма может быть критерием в эпидемиологических исследованиях. Осознавая необходимость в обеспечении безопасности пищевых продуктов, ВОЗ разработала программу по надзору за заболеваниями, передающимися с пищевыми продуктами – Global Foodborne Infections Network (GFN). Цель GFN заключается в помощи странам в выявлении, контроле, профилактике и организации интегрального надзора за заболеваниями, передающимися пищевыми продуктами, использовании аналитических статистических программ при расследовании крупных вспышек, а также укреплении межведомственного сотрудничества между отдельными отраслями: здравоохранением, ветеринарией и специалистами по пищевой безопасности [15, 19, 236, 237, 254, 368]. Стратегический план ВОЗ по обеспечению безопасности пищевых продуктов на 2013–2022 гг. включает меры по контролю за зоонозами пищевого происхождения. Основная задача плана – снижение бремени болезней пищевого происхождения, повышение уровня безопасности общественного здоровья и обеспечение устойчивого развития государств-членов [367].

В Российской Федерации в июле 2017 г. приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии введен в действие Межгосударственный стандарт в качестве национального стандарта «Микробиология пищевой продукции и кормов для животных. Полимеразная цепная реакция в режиме реального времени для определения патогенных микроорганизмов. Горизонтальный метод определения бактерий *Escherichia coli*,

продуцирующих Шига-токсин, в том числе серогрупп O157, O111, O26, O103 и O145» (ГОСТ ISO/TS 13136-2016).

#### ***1.4.5 Энтероаггративные E. coli (EAgEC)***

EAgEC – «новая» патогруппа DEC, вызывающая ОКИ детей и взрослых во всех странах, наиболее высокие показатели заболеваемости регистрируют среди детей младше 5 лет [8, 23, 75, 85, 190, 214, 216, 217, 230]. Метааналитические эпидемиологические исследования выявили статистически значимую связь EAgEC с диареями: острыми, продолжительными, хроническими, ВИЧ-инфицированных и путешественников [165, 203, 204, 292, 295]. Симптомы заболеваний, вызванные EAgEC, включают водянистую диарею часто с патологическими примесями в виде слизи и крови, тенезмы, тошноту, рвоту, субфебрильную температуру. Острая диарея, которая может купироваться быстро без назначения лечебных препаратов, является обычной патологией. У некоторых пациентов в зависимости от иммунного статуса, а также генетической предрасположенности может развиваться затяжная диарея продолжительностью более 14 дней [169, 217, 246]. Генетическая предрасположенность к диареем, вызываемым EAgEC, была впервые установлена среди жителей Северной Америки после их посещения Мексики. Однонуклеотидные полиморфизмы (SNP), обнаруженные в промоторах генов, кодирующих IL-8, лактоферрин, CD14 и остеопротегерин, были признаны индикаторами предрасположенности к хронизации диарей, обусловленных EAgEC [190].

Исследования, проведенные в Латинской Америке, Азии, Африке и бывших социалистических странах восточной Европы, показали, что EAgEC чаще чем другие бактериальные патогены являются причиной диарей у детей [191, 203, 246, 313]. Данные, полученные в США, Европе и Израиле, также свидетельствуют о том, что EAgEC часто вызывают диарейные заболевания у детей [154, 190, 196]. В США показатели заболеваемости эшерихиозами, обусловленными EAgEC, у детей раннего возраста выше, чем при кампилобактериозах и сальмонеллезах [216, 217]. Ряд исследователей подтверждают, что EAgEC являются ведущими бактериальными патогенами у госпитализированных с острой диареей детей как в

менее развитых, так и в промышленно развитых регионах [230, 359]. Есть данные о том, что ОКИ, вызванные EAgEC, более распространены среди взрослого населения в промышленно развитых странах, по сравнению со странами развивающихся регионов. В США EAgEC были наиболее распространенным возбудителем диарей в отделениях неотложной помощи и амбулаторных клиниках среди взрослых пациентов [166]. В Японии в пищевые вспышки, вызванных EAgEC, были вовлечены дети старшего возраста ( $> 5$  лет) и взрослые [169, 276, 344]. На Африканском континенте были описаны случаи диареи среди взрослого населения в Мали, Нигерии и Гане, обусловленные EAgEC [127, 292]. Проведенные крупномасштабные эпидемиологические исследования во многих странах показали, что частота диарей составляет примерно 3,2 эпизода на одного ребенка, из них до 20% соответствовали продолжительной диарее ( $> 14$  дней). С момента первого признания EAgEC как причины хронической продолжительной диареи у индийских детей, к настоящему времени появились неоспоримые доказательства этиологической роли EAgEC при хронических диареях у детей во многих странах, в том числе Европы и Америке [169, 206, 217, 359]. Современные данные по эпидемиологии EAgEC – инфекции противоречивы из-за больших различий в методах выявления возбудителя, а также в возрасте и социально-экономическом статусе пациентов. В развивающихся странах EAgEC являются основным возбудителем продолжительной диареи у детей со сниженным физическим и интеллектуальным развитием, ослабленных из-за недоедания [217, 214, 216, 230, 246, 272, 292]. В последние годы в экономически развитых странах часто регистрируют спорадические случаи диарей у детей и взрослых, вызванные EAgEC, а также групповые случаи заболеваний и вспышки с пищевым путем передачи в Европе, Японии, Мексике и Индии [140, 141, 169, 190, 230, 371]. В Германии с 1997 г. EAgEC являются третьими по частоте выделения бактериальными патогенами у детей раннего возраста при диареях (2%), после *Salmonella* spp. (13,4%) и STEC (3,1%) [217].

Бессимптомное носительство EAgEC часто выявляют у лиц с низким социально-экономическим статусом в развивающихся странах. Длительная

персистенция EAgEC при отсутствии диареи может вызывать хроническое воспаление кишечника, снижая его абсорбционную функцию, приводя к алиментарной дистрофии и задержке роста. Учитывая значительное число бессимптомного носительства EAgEC среди детей, эта патогруппа DEC оказывает значительное влияние на общественное здоровье как одна из причин нарушения физического и когнитивного развития [217, 313, 339]. По оценкам ВОЗ 32% детей младше пяти лет, проживавших в бедных районах, имели задержку роста. К сожалению, дефицит роста, возникающий в раннем возрасте, полностью не обратим, и этот постоянный дефицит является маркером устойчивой потери человеческого потенциала. Задержка роста встречалась не только у детей в бедных развивающихся странах, но и живущих в трущобах в странах со средним уровнем дохода [166, 169, 190, 217, 191, 230, 272, 288].

Несмотря на достаточные доказательства того, что EAgEC являются наиболее распространенными DEC в Российской Федерации, они остаются менее изученными и менее известными по сравнению с EPEC, EIEC и ETEC.

В настоящее время общепризнано, что EAgEC – инфекция относится к антропонозам, резервуаром и источником инфекции является человек, однако этот вопрос продолжает изучаться [206, 217]. Нет достоверных данных о том, что животные могут быть резервуаром и источником EAgEC [203, 216].

EAgEC впервые были описаны в 1987 г. Nataro et al. При изучении адгезивных свойств штаммов *E. coli*, выделенных от чилийских детей с диареей, на культуре клеток Нер-2 [228, 276]. Штаммы характеризовались специфичным феноменом агрегационной адгезии (АА) к эпителиальным клеткам Нер-2 в виде «сложенных кирпичей/кирпичной кладки». Обнаружение феномена АА *in vitro* по-прежнему остается «золотым стандартом» для детекции EAgEC, но требует специальных средств, занимает много времени и может встречаться у штаммов других патогрупп DEC, таких как а-EPEC [194].

Таким образом, современное определение EAgEC — это диареегенные *E. coli*, которые характеризуются феноменом АА к клеткам Нер-2 и не имеют основных генетических маркеров, ассоциированных с другими патогруппами



DEC (EPEC, ETEC, EHEC, EIEC). Исключением является гибридный штамм EAgEC / STEC O104:H4, вызвавший крупную пищевую вспышку диареи и ГУС в 2011 г. в Европе, в которой пострадали более 4000 человек. Полногеномное секвенирование этого штамма позволило выявить уникальную гибридную комбинацию EAgEC и STEC. Было установлено, что вспышечный штамм EAgEC Ec55989 имел гены, кодирующие факторы вирулентности EAgEC: активатор транскрипции, который способствует экспрессии хромосомных и плазмидо-кодируемых факторов вирулентности (*aggR*), агрегативно-адгезивные фимбрии (*aaf*), антиагрегационный белок дисперзин (*aap*), а также аутотранспортёр сериновой протеазы (*pic*) и синтеза токсина ShET-1, ассоциированный с развитием секреторной диареи. Этот штамм приобрел фаг с геном, кодирующим продукцию шигаподобного токсина Stx2 патогруппы STEC. Таким образом, уникальный штамм O104:H4 являлся EAgEC, продуцирующим Stx [122, 256, 312].

EAgEC отличается от других классических патогрупп DEC широкая вариабельность антигенных свойств и генетических маркеров вирулентности, а также принадлежность к филогенетическим группам [141, 190, 217, 276, 288]. Это указывает на то, вызывать диарею способны только штаммы EAgEC, несущие специфические гены вирулентности. В то же время, ни один из факторов вирулентности не был неопровержимо связан с вирулентностью EAgEC, а гены, кодирующие их, не присутствуют равномерно во всех изолированных штаммах [216, 276, 292]. Эксперименты *in vitro*, *in vivo* и *ex vivo* убедительно показали, что EAgEC могут адгезироваться с эпителиальными клетками тощей, подвздошной и толстой кишки, образуя прочную биопленку с последующим цитотоксическим и провоспалительным действием. Патогенез заболевания включает три этапа: (а) обильное прилипание к слизистой оболочке кишечника, (б) продукция цитотоксинов и энтеротоксинов, (в) индукция воспаления слизистой оболочки [165, 179, 278, 279, 313]. Для первого этапа необходимо наличие фимбриальных и афимбриальных адгезинов. У штаммов EAgEC идентифицировано несколько факторов колонизации [345]. Этап адгезии характеризуется повышенной секрецией слизи, которая приводит к образованию прочной биопленки, в которую

«встроены» EAgEC [278]. На следующем этапе EAgEC оказывают цитотоксическое действие на слизистую оболочку кишечника за счет секреции токсинов, вызывая везикуляцию микроворсинок и экструзию эпителиальных клеток [195]. Воспаление, вызванное EAgEC, является результатом обильной колонизации слизистой оболочки кишечника [216].

Наиболее изученными адгезинами EAgEC являются фимбрии агрегативной адгезии (AAF), которые опосредуют феномен АА и образование биопленки [126, 166, 277]. В зависимости от цитотоксического или энтеротоксического действия *in vitro* EAgEC могут синтезировать различные токсины, которые кодируются одним и тем же хромосомным локусом. *Shigella enterotoxin 1* (ShET1) – токсин, который присутствует в штаммах *Shigella flexneri 2a*, вызывает накопление жидкости в петлях подвздошной кишки и способствует развитию секреторной диареи, характерной для инфекций, вызванных EAgEC и *Shigella* [262]. Термостабильный токсин энтероаггративных *E. coli* 1 (EAST-1) гомологичен по 38-аминокислотам Sta токсину ETEC, он активирует аденилатциклазу, вызывая повышенные уровни циклического ГМФ, способствуя развитию водянистой диареи. Ген, кодирующий EAST1(*astA*), встречается у ~ 40% EAgEC и среди штаммов других патогрупп: 100% STEC O157:H7, 41% ETEC, 22% EPEC, а также у 38% штаммов *E. coli*, выделенных от пациентов без симптомов ОКИ [165, 195, 217, 262, 288]. EAST1 может присутствовать у комменсальных штаммов *E. coli*. Два белка Pet и Pic – аутотранспортёры сериновой протеазы *Enterobacteriaceae* (SPATE), из которых Pet – цитотоксин, изменяющий цитоскелет энтероцитов, приводит к округлению и отслоению клеток и Pic – «многозадачный» белок, который опосредует гемагглютинацию, расщепление и гиперсекрецию слизи, колонизацию кишечника, расщепление поверхностных гликопротеинов [278]. SPATE являются иммуногенными белками, о чем свидетельствует наличие в сыворотке крови антител против Pet и Pic у детей, перенесших диарею, вызванную EAgEC [116, 279]. Секретируемый EAgEC антиагрегационный белок дисперзин, кодируемый геном *aap*, связывается с липополисахаридом, нейтрализуя отрицательный заряд бактериальной поверхности, что приводит к

проекции ААF и, как следствие, диспергированию по слизистой оболочке кишечника. Дисперзин может присутствовать в штаммах других патогрупп DEC и комменсальных *E. coli* [268, 331].

Недавно было предложено дифференцировать штаммы EAgEC на подгруппы: типичные (t- EAgEC) и атипичные (a- EAgEC). Это деление основано на наличии или отсутствии гена *aggR*, который кодирует активатор транскрипции экспрессии как хромосомных, так и плазмидо-кодируемых факторов вирулентности, включая ААF и дисперзин [166, 193, 195, 216, 231, 269]. Высказано предположение, что t- EAgEC имеют больший патогенный потенциал за счет присутствия регулона AggR [270]. Ряд исследователей указывает на возникновение вспышек диареи, вызванных a- EAgEC [190, 217, 359, 371]. У детей с ОКИ нередко выделяют a- EAgEC, в ряде случаев чаще, чем t- EAgEC [203, 214, 216, 269, 292, 344].

Мультиплексные ПЦР-анализы, нацеленные на детекцию большого количества генов (*aggR*, *aaf*, *aap*, *aatA*, *pic*, *pet* и *astA*), кодирующих адгезины, цитотоксины, энтеротоксины и секретируемые белки, были использованы для обнаружения штаммов EAgEC [137, 151, 179, 230, 333, 339]. Несмотря на то, что такие белковые компоненты как дисперзин, Pic, ShET1, EAST-1 и Pet, участвуют в вирулентности EAgEC, ни один из них не присутствует во всех штаммах, поэтому ряд исследователей предложили использовать triplex – ПЦР для выявления трех генов *aggR*, *aatA* и *aaiA*, которая упрощает и унифицирует детекцию EAgEC, включая типичные и атипичные варианты [268, 269, 214, 217]. В исследовании Boisen et al. Было показано, что комбинация генов вирулентности может зависеть от географического региона [127], в связи с этим международный микробиологический надзор за EAgEC может улучшить надлежащий диагностический алгоритм [216, 292, 339].

Большое количество среди EAgEC штаммов в R-форме является препятствием при серотипировании, приводящим к большому количеству нетипируемых штаммов [127, 215, 217, 230, 313]. Тем не менее, в настоящее время идентифицированы штаммы 11 серологических групп (и серовариантов)

EAgEC: O3:H2; O7:H-; O15:H18; O44:H18; O51:H11; O77:H18; O86:H-; O86:H2; O111:H21; O126:H27; O127:H2; O144:H49; ONT:H21; ONT:H33, однако они не являются единственными для этой патогруппы DEC.

В последние годы появились данные о EAgEC как возбудителях инфекций внекишечной локализации: мочевыводящих (циститы, пиелонефриты) и желчевыводящих путей (холангиты, холециститы). Первоначально Abe et al. Описали присутствие маркеров вирулентности EAgEC в штаммах UPEC, выделенных из мочи, что впоследствии было подтверждено другими исследователями [103, 105, 129, 199, 281, 289, 314, 339]. Также сообщалось о наличии маркеров UPEC в коллекциях штаммов EAgEC [356]. Эти данные показали, что некоторые штаммы EAgEC могут вызывать ИМП. Недавно EAgEC были признаны возбудителями случаев уросепсиса и менингита [199].

#### ***1.4.6 Диффузно – адгерентные (прикрепляющиеся) E. coli (DAEC)***

DAEC – являются шестой патогруппой DEC, вызывающих кишечные инфекции у человека. Патогруппа DAEC включает штаммы гетерогенные по продукции многочисленных фимбриальных и афимбриальных адгезинов, которые определяют их специфическую диссеминированную адгезию к эпителиальным клеткам HeLa или Нер-2 [255, 277, 328, 329]. Некоторые исследователи считают, что из-за трудностей классификации и идентификации DAEC роль этого возбудителя при ОКИ требует дополнительных эпидемиологических исследований [328, 329].

DAEC выявляют не только у человека, но и у животных (телята, крупный рогатый скот, птицы, свиньи). Клинические проявления заболеваний включают диарейный синдром, боли в животе, обезвоживание и лихорадку. Не существует «уникальных» клинических симптомов, специфичных для ОКИ, вызванных DAEC. В экономически развитых странах распространенность DAEC у детей с диареей ниже, чем других патогрупп DEC. В развивающихся странах на их долю в структуре DEC приходится до 18% [329].

Долгое время патогенность и эпидемиологическое значение DAEC являлись предметом споров и в настоящее время все еще остаются под вопросом.

Некоторые исследователи связывают штаммы DAEC с диареей детей и взрослых, другие показывают, что DAEC могут присутствовать в кишечнике человека всех возрастных групп без клинических симптомов ОКИ. Острая диарея, обусловленная DAEC, относительно новая проблема, имеющая значение для общественного здравоохранения [194, 255, 273, 277].

Адгезины семейства Afa / Dr, ответственные за диффузный фенотип адгезии, являются основными факторами вирулентности в патогенезе DAEC. Germani et al. Показали, что ген *daaC*, который «распознает» консервативную область оперонов Afa / Dr, чаще встречался в штаммах, выделенных от пациентов с диареей, чем в контрольной группе здоровых лиц [184, 328]. Однако в некоторых исследованиях штаммы DAEC, экспрессирующие Afa / Dr, с одинаковой частотой выделяли от больных с диареей и в контрольной группе здоровых лиц, что позволило предположить, что в патогенезе могут участвовать дополнительные факторы вирулентности: адгезины, идентичные UPEC, такие как AfaE-I, AfaE-II, AfaE-III, AfaE-V и F1845, ассоциированные с диарейными штаммами DAEC; секретируемый токсин-аутоотранспортер (SAT), принадлежащий к семейству аутоотранспортеров сериновой протеазы *Enterobacteriaceae* (SPATE) [127, 213, 255, 329]. Большое разнообразие генов, кодирующих адгезины, затрудняет выявление инфекций, вызванных DAEC, что способствует исключению этих патогенов при рутинной диагностике инфекций желудочно-кишечного тракта и мочевыводящих путей [194, 273].

### ***1.5 Патотипы E. coli, вызывающие заболевания кишечника без диарейного синдрома***

В последние годы появились данные о потенциальных патотипах *E. coli*, которые не признаны в качестве описанных выше возбудителей ОКИ. К наиболее «интригующим» относят так называемые адгезивно-инвазивные *E. coli* (AIEC), которые ассоциируют с болезнью Крона [26, 133, 190, 277]. Известно, что AIEC могут проникать и размножаться в макрофагах, вызывая высвобождение большого количества фактора некроза опухоли (TNF)- $\alpha$ , который вызывает воспаление кишечника, характерное для терминального илеита (болезни Крона).

В настоящее время АИЕС идентифицируют фенотипическими методами, поскольку специфические молекулярные маркеры АИЕС не определены [133, 240].

Другим потенциально патогенным патотипом являются некротоксические *E. coli* (NTEC), ассоциированные с некротическим энтероколитом (НЭК) – тяжелое заболевание периода новорожденности, которое представляет собой воспаление кишечной стенки с последующим её некрозом (МКБ-10 Р-77). NTEC способны к трансцитозу через монослой эпителиальных клеток кишечника и продукции токсина цитонекротического фактора CNF1 или CNF2 [190, 277].

### **1.6 *E. coli* – представители нормобиоты кишечника**

Комменсальные *E. coli* являются облигатным синантропным и наиболее представленным факультативно-анаэробным компонентом микробиоты кишечника млекопитающих (до  $10^8$  КОЕ/г), которые не проявляют патогенной активности, участвуют в синтезе витаминов (группы В и К) и антибактериальных веществ (микроцины и колицины). Они находятся в эпителиальной слизи, выстилающей кишечник, и, как правило, состоят в симбиотических отношениях с хозяином [33, 36, 150, 342]. В популяции комменсальных *E. coli* встречаются клоны мутуалистов, функционирующие в кишечном биотопе на основе взаимовыгодного симбиоза, которые при определенных условиях могут вызывать патологические процессы (потенциальные патогены) [29, 38, 39, 72, 167, 287].

В настоящее время к актуальным направлениям исследований относят изучение видовой структуры симбиотических микроорганизмов, колонизирующих кишечник человека. В начале третьего тысячелетия стартовали программы Human Microbiome Project (USA, 2006) и MetaHIT Project (European Commission, 2008). Важными задачами этих проектов являются: изучение видового состава бактерий, колонизирующих кишечник человека, расшифровка их геномов, выяснение их роли в условиях здорового организма и в условиях патологии, а также изучение патогенного потенциала для возникновения заболеваний, вызываемых постоянно живущими при человеке бактериями [102, 205, 263, 347]. Высокая пластичность генома *E. coli* способствует неконтролируемому формированию уникальных патогенных штаммов из

комменсальных [27, 31, 111, 243, 319, 336]. К появлению новых патоваров *E. coli* также может приводить внутривидовой обмен мобильными генетическими элементами с другими представителями семейства *Enterobacteriaceae* [29, 167, 342, 354]. По данным литературы установлено, что распространенность штаммов-носителей генетических маркеров известных детерминант персистенции и патогенности в кишечной микробиоте здоровых лиц (без признаков острого или хронического заболевания ЖКТ) не превышает 10%. Нередко наблюдаются комбинации нескольких детерминант вирулентности [31, 33, 110, 128, 150, 309, 325, 338]. При снижении концентрации и активности индигенной микробиоты в популяции *E. coli* могут произойти изменения, способствующие увеличению клонов потенциальных патогенов. Опасность таких микробиологических нарушений становится очевидной, принимая во внимание чрезвычайно широкий спектр факторов вирулентности *E. coli*: эндо- и экзотоксины, цитотоксины, колицины, адгезины, инвазины, а также антилизозимная и антикомплемментарная и гемолизирующая активность, способность подавлять фагоцитоз, гистоповреждающие ферменты и метаболиты, резистентность к АМП, способность к L-трансформации и др. [36, 111, 128, 150, 242, 286, 319, 363].

### **1.7 Внекишечные патогенные *E. coli* (ExPEC)**

Патотипы *E. coli*, вызывающие заболевания внекишечной локализации, получили название экстраинтестинальные (внекишечные) патогенные *E. coli* (ExPEC). Они имеют сложную филогенетическую структуру и характеризуются значительной пластичностью генома, широким спектром факторов вирулентности, включая адгезины, токсины, инвазины, факторы приобретения железа, липополисахариды и капсулы, которые кодируют гены, расположенные на островах патогенности (PAI), плазмидах и других мобильных генетических элементах [31, 36, 37, 155, 173, 220, 223, 305]. Штаммы ExPEC филогенетически отличаются от комменсальных *E. coli* и DEC [167, 258, 314]. Они могут вызывать гнойно-септические инфекции (ГСИ) каждого органа или анатомического сайта, как правило, мочевыводящих путей, брюшной полости, мягких тканей, менингит, пневмонии, бактериемию и др. [149, 248, 250, 274, 318, 357, 358].

Патотип ExPEC включает уропатогенные/ Uropathogenic *E. coli* (UPEC), вызывающие инфекции мочевыводящих путей (ИМП), сепсис-ассоциированные/ Septicemia associated pathogenic *E. coli* (SEPEC), неонатальный менингит-ассоциированные/ Newborn meningitic *E. coli* (NMEC) и патогенные для птиц / Avian pathogenic *E. coli* (APEC), которые в настоящее время относят к категории ExPEC так как у этих штаммов подтвержден зоонозный потенциал ИМП человека [155, 173, 200, 211, 258, 283, 323].

В госпитальных условиях ExPEC с потенциально патогенным набором генов вирулентности и резистентности к АМП способствуют развитию инфекций, связанных с медицинской помощью (ИСМП) [305, 308, 323, 334]. Reid et al. Отметили, что мало кто понимает угрозы, создаваемые ExPEC со стороны лиц, работающих в различных секторах здравоохранения, несмотря на то, что предполагаемое ежегодное число случаев заболеваний ИМП, пневмонией, ИОХВ и сепсисом составляет от 6,7 до 8,6 млн. На основании экономических показателей заболеваемости, а также потенциальной летальности ExPEC являются важными глобально распространенными патогенами [305].

Общепризнано, что кишечник человека является основным резервуаром штаммов ExPEC, они входят в состав микробиоты здоровых людей, где сосуществуют с комменсальными *E. coli*, от которых отличаются наличием генов вирулентности и, как правило, принадлежностью к филогенетической группе B2 [248, 258, 287, 336].

Штаммы ExPEC относятся к ограниченному числу О-групп: O1, O2, O4, O6, O7, O14, O15, O18, O21, O25, O75, O175 [31, 103, 161, 244, 285]. Они экспрессируют множество факторов вирулентности и не объединены общим механизмом патогенности [167]. Факторы вирулентности ExPEC ассоциированы с возникновением различных внекишечных синдромов. Штаммы ExPEC человека и животных имеют общие факторы вирулентности [200, 219, 221, 372].

### **1.7.1 Уропатогенные *E. coli* (UPEC)**

Мочевыводящие пути являются наиболее распространенным локусом бактериальной инфекции, а *E. coli* наиболее частым возбудителем этого биотопа.



ИМП, могут иметь многообразную клиническую картину – от бессимптомной бактериурии, различных восходящих инфекций (острого пиелонефрита) до тяжелого уросепсиса [10, 107, 131, 170, 186, 308]. Ежегодно в России регистрируют до 1,3 млн новых случаев острого пиелонефрита [43]. Треть взрослого населения переносят, по крайней мере, один эпизод острого цистита в течение жизни (26-36 млн случаев острого цистита в год) [44].

UPEC характеризуются повышенной адаптационной способностью выживания и размножения в мочевом тракте, за счет наличия специфических липополисахаридов (ЛПС), капсул, белков наружной мембраны, фимбрий, пилей, секретируемых токсинов, рецепторов поглощения и усвоения железа, в том числе сидерофоров, а также резистентности к бактерицидному действию сыворотки крови [186, 308]. Уропатогенный потенциал *E. coli* последовательно реализуется на различных этапах инфекционного процесса: адгезии, колонизации, персистенции [266, 314, 323]. UPEC попадают в мочевыводящие пути восходящим, реже – нисходящим (гематогенным) путем [32].

Для успешной колонизации тканей мочевыводящей системы *E. coli* необходимы конкретные адгезины. К основным факторами адгезии относят пили или фимбрии. Типичными для UPEC являются пили 1 типа (FimH), P, S и F1C-фимбрии. Адгезины FimH, кодируемые геном *fimH*, играют важную роль в начале развития ИМП и считаются самым распространенным фактором вирулентности UPEC. Они распознают и прикрепляются к маннозилированным гликопротеиновым рецепторам уротелиальных клеток, вызывая их апоптоз и отшелушивание, опосредуя инвазию эпителия мочевого пузыря, что может содействовать персистенции UPEC, предрасполагая к возникновению рецидивов ИМП [31, 32, 43, 155, 170, 186]. Штаммы, вызывающие цистит, всегда экспрессируют фимбрии тип 1, при отсутствии других фимбрий, инфекция ограничится только поражением мочевого пузыря [357]. Главной разновидностью пилей, специфичных для UPEC, являются P – фимбрии, кодируемые *rар* геном. Они отсутствуют у комменсальных и диареогенных *E. coli* и получили свое название так как чаще обнаруживаются у штаммов, ассоциированных с

пиелонефритом. Р-фимбрии ответственны за адгезию, а также за выработку цитокинов и высвобождение церамида, что в свою очередь, приводит к развитию локального воспаления [10, 32, 286]. Маннозорезистентные S-пили подразделяют на Sfa, F1C-пили (Foc) или S/F1C-связанные пили (Sfr). Эти адгезины имеют высокую степень гомологии, но различаются рецепторной специфичностью; S-пили связываются с сialiрированными гликопротеинами, которые входят в состав базальных мембран эпителия и эндотелия и экспрессируются преимущественно штаммами SEPEC и NMEC, но могут часто встречаться и у штаммов UPEC, вызывающих восходящие ИМП [323]. F1C-пили (*foc*) связываются с остатками  $\beta$ -GalNac-1,4,4-Gal на гликолипидах эпителиальных клеток дистальных канальцев и протоков почек, а также на эндотелиальных клетках мочевого пузыря и почек [170, 357]. Кроме фимбриальных адгезинов у UPEC широко распространены, кодируемые геном *afa*, афимбриальные адгезины семейства Afa / Dr, способствующие адгезии с уротелиальными клетками. Штаммы, синтезирующие афимбриальные адгезины, имеют высокий потенциал возникновения пиелонефрита и рецидивирующего цистита [170, 323, 328]. Dr-адгезин (Dr-гемагглютинин) относят к фактору восходящей колонизации мочевыделительной системы, т.к. его рецепторы широко представлены в почечной паренхиме [127].

Анализ данных литературы позволил выделить наиболее часто встречающиеся гены, кодирующие токсины ExPEC, к которым относят: *hlyA* ( $\alpha$ -гемолизин), *cnf1* (цитотоксический некротический фактор 1), *cdtB* (фактор расширения цитолетального токсина) [170, 323, 334]. Токсины играют важную роль при инфекциях внекишечной локализации, поскольку способствуют распространению бактерий в тканях, повышению цитотоксичности, устойчивости к нейтрофилам, а также повреждению и нарушению метаболизма клеток хозяина, приводящему среду биотопа к более благоприятной для *E. coli* [264, 314, 323]. Наиболее изученным токсином, секретируемым UPEC, является  $\alpha$ -гемолизин – HlyA (продукт гена *hlyA*) – порообразующий лизирующий эритроциты токсин, который не только стимулирует апоптоз клеток-мишеней, включая нейтрофилы, Т-лимфоциты и почечные эпителиоциты, но и вызывает деградацию

регуляторных и структурных компонентов цитоскелета, способствуя отшелушиванию клеток мочевого пузыря и разрушению фагоцитов [323, 357]. HlyA в комбинации с другими факторами патогенности, включая ЛПС, может привести к повреждению почечного эпителия и острому воспалительному ответу. Токсин CNF1, кодируемый геном *cnf*, препятствует полиморфно-ядерному фагоцитозу, способствует выработке биологически активных компонентов, вызывая функциональные и структурные повреждения, а также апоптоз эпителиальных клеток мочевого пузыря [38, 170, 323]. Токсин с ДНК-азной активностью – CDT, кодируемый геном *cdt*, приводит к увеличению клеток и их гибели через апоптоз; встречается более чем у 90% штаммов UPEC [264, 336].

К другим факторами патогенности UPEC, которые способствуют колонизации мочевого пузыря, относят ЛПС, обеспечивающий устойчивость бактерий к гидрофобным антибиотикам, что снижает эффективность терапии ИМП [10, 31, 161].

К факторам персистенции UPEC относят синтез капсульных структур – К-антигенов, которые защищают бактерии от фагоцитоза и бактерицидного действия системы комплемента. Структура полисахаридных капсул позволяет имитировать компоненты ткани хозяина, что затрудняет распознавание UPEC клеткам иммунной системы. За синтез капсул K1, K5 и K12 отвечает группа оперонов *kpsMTII*, капсул K3, K10 и K54 – *kpsMTIII* [170, 286, 323].

В настоящее время появляются все больше доказательств того, что продукция сидерофоров, определяющих способность бактериальных клеток к захвату железа, имеет решающее значение для выживания UPEC в уретральном тракте. Наличие сидерофоров увеличивает вирулентность UPEC. К основным сидерофорам UPEC относят аэробактин (*iutA*) и иерсинебактин (*fyuA*). Рецептор аэробактина гораздо эффективнее улавливает Fe, а иерсинебактина защищает бактериальные клетки от иммунного ответа хозяина [31, 155, 325].

### **1.7.2 Менингит – и сепсис ассоциированные *E. coli* (NMEC/SEPEC)**

Распространенной причиной бактериальных менингитов новорожденных с летальностью до ~ 40%, а также тяжелых неврологических последствий у

большинства перенесших, являются менингит-ассоциированные *E. coli* (NMEC) [232, 283, 317]. В большинстве случаев инфицирование новорожденных происходит при наличии NMEC в мочеполовых путях рожениц или бессимптомном носительстве их в кишечнике, или как осложнение неонатального сепсиса, или развивается в отделениях реанимации и интенсивной терапии [6, 283], поэтому нередко менингиты являются госпитальными инфекциями.

К факторам вирулентности NMEC, обеспечивающим проникновение через ГЭБ, относят инвазины, токсины и адгезины. Процесс транслокации *E. coli* из крови в ЦНС происходит без видимых повреждений ГЭБ, что указывает на процесс транцитоза. Патогенез основан на пенетрации эпителиальных барьеров, проникновении в кровяное русло и далее через фенестрированный эндотелий сосудистого сплетения головного мозга в ЦНС [155, 334]. Известно, что все потенциальные возбудители менингитов имеют капсульный K1- антиген, который обладает антифагоцитарными свойствами и резистентностью к бактерицидному действию сыворотки крови [173, 285, 323]. K1- антиген *E. coli* по химической структуре и иммунохимическим характеристикам идентичен полисахаридному антигену *Neisseria meningitidis*. Штаммы с K1 антигеном (продукт гена *kpsK1*) используют S – фимбрии (ген *sfa*) для связывания с люменальной поверхностью эндотелия микрососудов мозга. Роль инвазинов выполняют белок наружной мембраны OmpA (ген *ompA*) и IbeA (ген *ibeA*), которые взаимодействуют с рецепторами микрососудов эндотелиальных клеток [155, 232, 285, 323]. К дополнительным маркерам, связанным с вирулентностью NMEC, относят гены, ответственные за синтез аэробактина (*iutA*), необходимого бактериям для получения железа в условиях с его низким содержанием [283, 358].

Эшерихиозный сепсис чаще заявляет о себе во «взрослой» медицине. Сепсис — это патологический процесс, в основе которого лежит реакция организма в виде генерализованного (системного) воспаления на инфекцию различной этиологии [219]. Нередко сепсис рассматривают как вторичную инфекцию в результате врачебных манипуляций. Летальность при хирургическом сепсисе достигает 50%. Каждый третий случай — это уросепсис, который может

возникнуть при любом гнойном урологическом заболевании (нарушение уродинамики при ИМП, гнойные формы пиелонефрита, задержка мочи, острый простатит) [58, 89]. Летальность при уросепсисе составляет от 20 до 60% [317]. Риск развития сепсиса повышается при инфекционном процессе, вызванным штаммами *E. coli*, которые имеют в своей структуре Р пили и S- фимбрии, продуцирующие гемолизин, цитонекротический фактор и синтезирующие капсульный антиген K2 [219, 323]. Установлено, что тяжелые неонатальные менингиты и сепсис способны вызывать штаммы *E. coli* принадлежащие к ограниченному числу О-серогрупп (O1, O6, O7, O12, O16, O18, O83), имеющие конкретный набор факторов вирулентности [285].

### **1.7.3 Патогенные для птиц *E. coli* (APEC)**

АРЕС, вызывающие колибактериоз у домашних и диких птиц, относят к патотипу ExPEC. Колибактериоз является основным инфекционным заболеванием птиц, приводит к высокому падежу птицепоголовья с чем связаны значительные экономические потери птицеводческих хозяйств во всех странах [4, 173, 287]. Заболевания, которые могут быть вызваны АРЕС у птиц, включают инфекции дыхательных путей, сепсис, полисерозит, колигранулёму, целлюлит, инфекцию желточного мешка, омфалит и синдром опухшей головы [258]. Исследования, проведенные рядом ученых, показали, что штаммы АРЕС и ExPEC, вызывающие инфекции у людей, филогенетически тесно связаны и имеют одни и те же гены вирулентности [305, 318, 323]. Не исключено, что штаммы АРЕС гипотетически могут представлять опасность для здоровья человека [258, 323]. Другими авторами было высказано предположение, что штаммы АРЕС могут быть резервуаром генов вирулентности ExPEC для человека. Некоторые штаммы ExPEC имеют ген *iss*, который отвечает за выживаемость бактерий в сыворотке крови. Этот ген находится на плазмиде вирулентности ColV, типичной для АРЕС, что указывает на то, что обмен плазмидами и, следовательно, обмен этими генами вирулентности возможен между патогенными штаммами *E. coli* человека и птиц [224, 323].

Изучение появляющихся гибридных штаммов *E. coli*, несущих гены

различных патотипов (DEC, ExPEC и APEC), показало, что они могут относиться к одним филогруппам, серогруппам и сероварам и иметь общие генетические детерминанты вирулентности, что указывает на тот факт, что существующая классификация патогенных *E. coli* не отражает эволюционные процессы данного вида. Спорадически появляются штаммы *E. coli* с гибридным энтероаггегативным/уропатогенным (EAgEC/UPEC) генотипом, которые вызывают внекишечные инфекции у человека [254, 258]. Результаты, полученные R.M. Khairu с соавт. (2019), показали тесную связь между DEC и UPEC, авторы высказали предположение, что некоторые диареегенные штаммы потенциально могут быть уропатогенами [103, 248]. Существует альтернативное мнение о том, что некоторые штаммы UPEC приобрели свойства EAgEC, и могут быть причиной диарейных заболеваний [314].

Учитывая, что штаммы ExPEC и DEC могут относиться к одним филогруппам и сероварам, иметь идентичные генетические детерминанты вирулентности, необходимы эпидемиологические и клинические исследования для выяснения механизмов, лежащих в основе этих процессов, что позволит разработать унифицированные профилактические и терапевтические стратегии, основанные на фактических данных.

### ***1.8 E. coli – возбудитель инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи (ИСМП)***

Актуальность ИСМП обусловлена их широким распространением, а также существенным ростом расходов на оказание медицинской помощи. С точки зрения экспертов ВОЗ, ИСМП включают инфекции, возникшие у пациентов, во время получения медицинской помощи в стационаре или другом медицинском учреждении, которые не находились в стадии инкубационного периода. Кроме того, они включают профессиональные инфекции среди медицинского персонала [12, 67]. По локализации патологического процесса ИСМП классифицируют на катетер-ассоциированные инфекции мочевыводящих путей и кровотока, вентилятор-ассоциированные инфекции дыхательных путей, инфекции в области хирургического вмешательства, костно-мышечной системы, кожи и подкожной

клетчатки, генерализованные формы (сепсис) [90, 91]. По результатам международных и российских исследований этиологическими агентами при ИСМП ведущее место занимают грамотрицательные микроорганизмы на долю *E. coli* приходится до 48% случаев [2, 16, 49, 58, 63, 67, 68, 78, 83, 86, 87, 88, 96]. Согласно данным зарубежных исследований, ИСМП в среднем возникают у 5 – 15% госпитализированных пациентов. В то же время в отделениях реанимации может достигать 40%. Социальный и экономический ущерб, наносимый ИСМП в США, ежегодно составляет около 55–60 млрд \$, в странах Европы – 13–24 млрд €, в Великобритании – около 10 млрд £ [302]. Достоверные и полные статистические данные о социальном и экономическом бремени ИСМП в Российской Федерации отсутствуют [2, 61]. По данным официальной статистики, ежегодно в нашей стране регистрируют около 25–30 тыс. случаев ИСМП (<0,1% от числа госпитализируемых пациентов), что не отражает реальной эпидемиологической ситуации [70]. Экспертные оценки, основанные на экстраполяции данных статистики зарубежных стран, в частности США, показывают, что их истинное число составляет не менее 2–2,5 млн человек. Российскими учеными установлено, что ИСМП в среднем поражают 10% пациентов, находящихся в стационарах страны, составляя ежегодно не менее 2,5– 3,0 млн случаев, а экономический ущерб, ежегодно причиняемый ИСМП, достигает ~ 300 млрд руб. [2, 48, 67, 68].

К числу глобальных вызовов, с которыми столкнулось человечество в XX веке, относят широкое распространение устойчивости возбудителей инфекционных заболеваний к антибиотикам [12, 16, 53, 253], что наиболее ярко проявляется в отношении возбудителей ИСМП. В 2011 г. в Российской Федерации была утверждена национальная Концепция профилактики инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи, одной из основных задач которой является повышение качества лабораторной диагностики и микробиологического мониторинга – возбудителей ИСМП, определение спектра устойчивости микроорганизмов к антимикробным средствам (АМП, антисептикам, дезинфектантам и др.) для разработки рациональной стратегии и тактики их применения. Особое внимание уделено молекулярно – генетическому

типированию возбудителей для слежения за циркуляцией международных эпидемических клонов в пределах территориальных единиц, субъектов РФ и на национальном уровне [67, 78, 90, 91].

### ***1.9 Резистентность *E. coli* к антимикробным препаратам***

В настоящее время проблема резистентности микроорганизмов к АМП приобрела глобальный характер и во многих странах рассматривается как одна из угроз общенациональной безопасности [49, 53, 63, 253]. В 2004 г. на совещании экспертов ВОЗ, посвященном реализации «Глобальной стратегии по сдерживанию устойчивости к противомикробным препаратам», было предложено рассматривать феномен антибиотикорезистентности в бактериальных популяциях как новую инфекцию [11]. В 2014 г. ВОЗ включила *E. coli* в список семи видов бактерий, вызывающих жизнеугрожающие заболевания, такие как сепсис, диарея, пневмония, ИМП и др., в качестве индикаторных для слежения за развитием резистентности к АМП [13]. В 2017 г. ВОЗ опубликовала список 12 «приоритетных» патогенов, устойчивых к АМП, представляющих наибольшую угрозу для здоровья человека. *E. coli* с множественной устойчивостью по потребности в создании новых АМП отнесены к группе микроорганизмов с критически высоким уровнем приоритетности [16].

Являясь индикаторным микроорганизмом, *E. coli* включена во многие международные глобальные системы надзора за развитием резистентности: GLASS – Global Antimicrobial Resistance Surveillance System (<https://www.who.int/glass/en/>), CAESER – Central Asia and Eastern European Surveillance of Antimicrobial Resistance (<https://www.euro.who.int/en/health-topics/disease-prevention/antimicrobialresistance/surveillance/central-asian-and-european-surveillance-of-antimicrobial-resistance-caesar>), ATLAS- Antimicrobial Testing Leadership and Surveillance (<https://atlas-surveillance.com/#/login>), EARS-net – European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (<https://www.ecdc.europa.eu/en/about-us/partnerships-and-networks/disease-and-laboratory-networks/ears-net>), SMART – Study for Monitoring Antimicrobial Resistance Trends (<http://www.globalsmartsite.com/login.aspx?ReturnUrl=%2fDefault.aspx>), SENTRY – Antimicrobial Surveillance Program (<https://www.sentry-antimicrobial-resistance.org/>).



[//www.jmilabs.com/sentry-surveillance-program/](http://www.jmilabs.com/sentry-surveillance-program/)), BARN – Baltic Antimicrobial Resistance Net (<https://www.folkhalsomyndigheten.se/the-public-health-agency-of-sweden/communicable-disease-control/antibiotics-and-antimicrobial-resistance/international-collaborations/barn-an-expert-network-operating-in-the-baltic-sea-region/>), Россия сотрудничает с перечисленными международными организациями [13, 17, 18, 73, 86, 87, 88, 100, 327]. Осознавая рост резистентности к АМП как угрозу национальной безопасности, многие страны разработали национальные программы по мониторингу резистентности и чувствительности микроорганизмов – возбудителей различных инфекционных заболеваний: Second Generation Surveillance System (SGSS) и BSAC Resistance Surveillance Programme (British Society for Antimicrobial Chemotherapy) в Великобритании, CDDEP (Centers for Disease Dynamics, Economics & Policy) в США, ReLAVRA в странах Латинской Америки. Во всех международных и национальных программах особое внимание уделяют изучению формирования и распространения резистентности в бактериальных популяциях, результаты исследований открыто публикуют в сети Интернет и в печатных изданиях.

В Российской Федерации в 2017 г. принята Стратегия предупреждения и распространения резистентности на период до 2030 г., в которой предусмотрено внедрение современных методов изучения механизмов ее формирования и мониторинга распространения. Единые стандартизированные методы определения чувствительности к АМП и критерии интерпретации, основанные на современных знаниях о механизмах резистентности, позволят улучшить качество исследований и проводить эффективный мониторинг не только на местных, региональных и федеральных, но и международном уровнях [79].

Проблема антибиотикорезистентности представляется особо актуальной в лечении внутрибольничных инфекций, распространение которых возрастает с совершенствованием медицинских технологий и увеличения числа критических состояний, поддающихся эффективной антибактериальной терапии. В последние годы неоднократно отмечалась глобальная угроза «выноса» за пределы стационаров и распространения в обществе устойчивых к АМП штаммов

микроорганизмов, в том числе *E. coli* [34, 53, 63, 68, 78]. К наиболее «проблемным» с позиций здравоохранения относят штаммы *E. coli*, продуцирующие бета-лактамазы расширенного спектра (БЛРС). Снижение эффективности цефалоспоринов III–IV поколения диктует необходимость подбора адекватной терапии заболеваний, вызванных БЛРС – продуцирующими штаммами и нередко использовать препараты резерва – карбапенемы. В последние десятилетия увеличение числа БЛРС – продуцирующих штаммов *E. coli* связано с глобальной пандемией распространения ферментов СТХ-М, которые по сравнению с «классическими» TEM и SHV обладают большей активностью в отношении широко используемых цефалоспоринов III (цефотаксим, цефтриаксон) и IV (цефепим) поколений. В России, в странах Европы, Азии, Ближнего Востока, Северной и Южной Америки СТХ-М бета-лактамазы являются доминирующей группой БЛРС [53, 73, 80, 83, 88, 92, 95, 100, 156, 242, 250, 253, 257, 267, 293, 301, 302, 327, 332]. Резистентность к цефалоспорином III–IV поколения и карбапенемам, а также комбинированная резистентность к препаратам других групп, приводит к неэффективности антимикробной терапии, не только в отделениях интенсивной терапии, но и в различных отделениях многопрофильных стационаров.

В Российской Федерации проводят многочисленные научные исследования, результаты которых отражают ситуацию по распространению резистентности к АМП различных микроорганизмов на территориях практически всех Федеральных округов и показывают, что БЛРС-продуцирующие *E. coli* на протяжении многих лет циркулируют в российских стационарах, особенно в ОРИТ. В отечественных журналах регулярно публикуют результаты многоцентровых микробиологических и эпидемиологических исследований о частоте встречаемости резистентных к АМП широко распространенных микроорганизмов — возбудителей инфекций кровотока, мочевыводящих путей, инфекций кожи и мягких тканей, нозокомиальных пневмоний и др. [9, 34, 48, 53, 63, 73, 80, 83, 85, 86, 87, 96]. В последние годы проблема появления и распространения штаммов, резистентных к традиционно используемым АМП, у

пациентов российских стационаров приобретает угрожающие масштабы [78]. При лечении нозокомиальных инфекций, вызванных грамотрицательными бактериями, во многих случаях неэффективны не только цефалоспорины III–IV поколений, фторхинолоны и аминогликозиды, но и карбапенемы, ранее считавшиеся наиболее надежными препаратами. По результатам многоцентрового эпидемиологического исследования «МАРАФОН» в 2015-2016 гг. устойчивость к цефалоспорином III–IV поколения среди госпитальных штаммов *E. coli* достигла уровня 70,6% из них 2,7% были резистентны к карбапенемам [88]. Резистентность к АМП характерна не только для нозокомиальных штаммов микроорганизмов. В Европейских исследованиях показано, что при внебольничных осложненных абдоминальных инфекциях часто выделяют БЛРС-продуцирующие *E. coli* [250, 253, 266, 267]. В российском пилотном многоцентровом исследовании по этиологии и резистентности к АМП возбудителей внебольничных перитонитов установлено, что *E. coli* являлись одним из наиболее частых возбудителей, из них 21% штаммов были продуцентами БЛРС [49]. Негативной тенденцией последних пяти лет является появление в России резистентных к карбапенемам штаммов *E. coli*. По данным исследования системы Central Asian and Eastern European Surveillance of Antimicrobial Resistance (CEESAR) в 2016 г. на территории Российской Федерации 66% клинических изолятов *E. coli* были устойчивы к цефалоспорином III–IV поколений, из них 3% к карбапенемам, 28% штаммов характеризовались множественной устойчивостью (MDR-фенотипом – multidrug resistant) [17]. В 2017 г. – устойчивыми к цефалоспорином III–IV поколения были 84% клинических изолятов *E. coli*, из которых 7% - резистентны к карбапенемам; MDR-фенотипом характеризовались 51% штаммов [18].

Быстрый рост резистентности к цефалоспорином III–IV поколения и карбапенемам в популяции *E. coli* связан с распространением международных успешных клонов, относящихся к «клонам высокого риска», и в первую очередь сиквенс типа 131 (ST131), для которого характерна выраженная резистентность к АМП и способность быстро приобретать дополнительные детерминанты резистентности [105, 146, 157, 162, 186, 222, 259, 284, 296, 301]. Подобная

ситуация является отражением аллодемии – быстрое распространение резистентности из множества независимых генетических источников (генов резистентности, мобильных элементов и клонов), формирующих пул микроорганизмов с одинаковым фенотипом резистентности [97, 115]. Штаммы *E. coli* ST 131 представляют собой пандемический клон, часто ассоциируемый с продукцией БЛРС генетического семейства СТХ-М и устойчивостью к фторхинолонам, который является преобладающей линией *E. coli*, широко распространенной во многих странах трех континентов, включая Европу, Азию, страны Персидского Залива и Ближнего Востока, Северную Америку и Австралию [106, 107, 186, 222]. В последние годы появились данные о том, что *E. coli* ST 131 в отличие от других сиквенс-типов, более устойчивы к комбинированным АМП (амоксциллин/клавуланату, пиперацillin/тазобактаму, триметоприм/сульфаметоксазолу) и амикацину [358], а также являются высоковирулентными, содержат большое количество генов вирулентности, вызывают широкий спектр внебольничных и внутрибольничных заболеваний (ИМП, сепсис, менингит, костно-суставные и интраабдоминальные инфекции и др.) [162, 296, 301, 358]. Многочисленными исследованиями показано, что штаммы *E. coli* ST 131 принадлежат к филогенетической группе В2 и чаще относятся к серовару O25:H4 [105, 146, 162, 186, 222, 223]. В ряде стран Японии, Дании, Австралии, Испании, Пакистане и Франции отмечено появление *E. coli* серовара O16:H5, принадлежащих к ST 131 [259, 284].

Широкое разнообразие комбинаций генов вирулентности и резистентности придает штаммам ST 131 конкурентное преимущество перед другими БЛРС-продуцирующими *E. coli*, способствует клональному распространению и доминированию над менее вирулентными и чувствительными к АМП штаммами, поэтому клон ST 131 имеет глобальное трансконтинентальное распространение. До 2000 г. единственным методом детекции ST – был метод MLST. В начале нового тысячелетия О. Clermont с соавт. Разработали простой и доступный метод ПЦР с использованием праймеров для детекции гена *trpA* специфичного ST 131 [145]. Быстрые методы, позволяющие идентифицировать ST131, могут быть

использованы для коррекции терапии до того, как станут доступны данные рутинного теста определения чувствительности к АМП [253, 259, 284].

В настоящее время в РФ существует острая необходимость в проведении широкомасштабных исследований по изучению частоты распространения резистентных к АМП успешных международных клонов *E. coli*, способных к широкому эпидемическому распространению.

Вопрос этиотропной терапии ОКИ достаточно сложен: с одной стороны, использование антибиотиков при легких и среднетяжелых формах диарей ряд исследователей считает нецелесообразным, с другой – есть указания на то, что применение АМП уменьшает выраженность диарейного синдрома [12, 17, 21, 41, 69, 81]. Согласно клиническим рекомендациям, антибактериальные препараты показаны при инвазивных и секреторных диареях у детей раннего возраста, а также пациентам всех возрастных групп при тяжелых формах диарей [57, 69, 364]. Проблема резистентности представляется актуальной и при лечении ОКИ, вызываемых *E. coli*. Традиционно основу лечения составляли бета-лактамы антибиотики и, прежде всего, цефалоспорины III поколения [56, 65]. Однако эффективность этой группы препаратов в последние годы резко снизилась в связи с распространением БЛРС-продуцирующих штаммов. Альтернативу цефалоспорином III поколения составляют цефалоспорины IV поколения, карбапенемы и ингибитор-защищенные бета-лактамы, применение которых в медицинской практике постоянно расширяется. В ответ на изменения в стратегии и тактике применения АМП в различных регионах мира происходят изменения в распространении отдельных групп и классов БЛРС. Своевременное выявление изменений в распространении бета-лактамаз имеет важное практическое и теоретическое значение, так как позволяет корректировать рекомендации по антибактериальной терапии ОКИ, разрабатывать экспрессные молекулярные методы детекции резистентности.

Анализ литературы о чувствительности штаммов *E. coli*, выделенных от пациентов с ОКИ показал, что резистентность к двум классам АМП, в настоящее время - «обычное явление». Отмечено появление штаммов с MDR-фенотипом,

устойчивых к восьми-деяти классам АМП с сохранением чувствительности к карбапенемам. Уровень резистентности отличался в штаммах разных патогрупп DEC. Штаммы EAgEC были более резистентны, ~ 70% характеризовались MDR – фенотипом. Низкий уровень резистентности был отмечен в штаммах ETEC. Резистентность была выявлена в штаммах EHEC, учитывая, что АМП не используют для лечения EHEC-инфекции [21, 22, 81, 123, 271, 282, 295, 358, 359, 371]. Резистентность DEC отмечена во многих развивающихся странах, в которых частые диареи в сочетании с беспрепятственным и нерегулируемым доступом к АМП снижают ценность этих препаратов. Высокая частота резистентности к широко используемым препаратам при лечении диарей, таким как ампициллин и триметоприм/сульфаметоксазол, отмечена во Вьетнаме (86 и 88% соответственно), Танзании (85 и 87%), Мексике (73 и 65%), Аргентине (75 и 64%) и Мозамбике (72 и 58%) [108, 306, 307].

Обоснованное, но частое применение АМП широкого спектра действия при инфекционных заболеваниях, а также их нерациональное использование может влиять на комменсальные *E. coli*, оказывая неблагоприятный эффект на здоровье человека, а также способствовать приобретению генетических детерминант лекарственной устойчивости с последующим обменом генами, кодирующими резистентность. Комменсальные *E. coli* как универсальные представители микробиоты толстого кишечника неоднократно подвергаются воздействию АМП в течение жизни человека, в результате чего приобретают гены резистентности к антибиотикам различных классов [83, 92, 150, 250, 266].

### ***1.10 Лабораторная диагностика инфекций, обусловленных патогенными E. coli***

Исторически сложившимся и традиционным для диагностики ОКИ, обусловленных DEC, в бактериологических лабораториях является культуральный метод микробиологического исследования [1, 77, 365]. Однако его практическая ценность (возможность дальнейшего фенотипического и молекулярного изучения выделенного штамма) имеет ряд принципиальных недостатков [1, 7, 64, 76, 84]:

- наличие в пробах испражнений авирулентных штаммов *E. coli*, численно превалирующих над DEC, при отсутствии культуральных особенностей колоний DEC от *E. coli* – представителей нормобиоты кишечника;
- отсутствие фенотипических и биохимических признаков, коррелирующих с патогенностью, за исключением *E. coli* O157:H7 (сорбит и бета-глюкуронидаза отрицательные);
- отсутствие корреляции между серогруппами / сероварами и патотипами (патогруппами) *E. coli*. Например: *E. coli* O55 и O111 в зависимости от серовара и генов вирулентности могут принадлежать к разным патогруппам – EPEC и STEC; *E. coli* O26:H11 в пределах одного серовара – от наличия генов вирулентности могут относиться к двум патогруппам EPEC и STEC; *E. coli* O6 по антигенной характеристике и генам вирулентности могут относиться к DEC (ETEC или STEC) и ExPEC;
- длительность исследования и высокая стоимость;
- требования к профессиональной квалификации специалиста.

До настоящего времени «золотым стандартом» для определения серологической группы и серологического варианта штаммов *E. coli* считали метод серологического типирования с использованием О-, ОК- и Н-агглютинирующих сывороток. В бактериологических лабораториях критерием дифференциации патогенных штаммов *E. coli* от непатогенных служат их антигенные свойства. Идентификация штаммов *E. coli* ограничивается определением только соматических О- антигенов, т.е. установлением принадлежности к О- группе, что по критериям качества оказания медицинской помощи и принципам доказательной медицины является недостаточным, т.к. каждая О- группа включает большое число сероваров клиническая и эпидемиологическая значимость которых неодинакова [118, 119, 120, 125, 187, 188, 215, 226, 304]. Идентификация выделенного штамма *E. coli* только по О-антигену без определения Н-антигена делает невозможным проведение достоверного эпидемиологического расследования [117]. В Российской Федерации серотипирование *E. coli* по Н-антигену в рутинной практике не

проводят, из-за отсутствия отечественных Н-сывороток. Значимый прогресс в лабораторной диагностике связан с разработкой быстрых и надежных молекулярных методов (молекулярное серотипирование), унифицирует и удешевляет определение антигенной характеристики штаммов *E. coli*. К ним относят: метод анализа полиморфизма длин фрагментов рестрикции (RFLP) амплифицированных генов *rfb* и *fliC*, контролирующих синтез О – и Н-антигенов и ПЦР с использованием праймеров к известным О- и Н – антигенам [113, 114, 187, 208]. В последние годы альтернативой традиционному и молекулярному серотипированию является полногеномное секвенирование (WGS). Исследователями Центра геномной эпидемиологии (CGE) Датского технического университета (DTU) (<http://www.genomicpidemiology.org>) разработан доступный веб-инструмент SerotypeFinder для установления сероваров *E. coli*, на основе анализа последовательностей генов, кодирующих О- и Н-антигены. База данных составлена на основе коллекций NCBI и WGS эталонных штаммов *E. coli* Датского Института Сывороток (Serum Institute, Копенгаген, Дания) [42, 215, 218, 235, 247]. Установление антигенной характеристики штаммов *E. coli* по результатам WGS более быстрое и экономичное, чем традиционные методы. При использовании WGS «нетипируемые» штаммы из-за отсутствия экспрессии О – антигенов (R-форма) или Н-антигенов (неподвижные) идентифицируются полностью, проблема фенотипических перекрестных реакций и установление новых О- групп исчезает без исключения [215, 218]. Кроме того, данные WGS дают ценную информацию о степени вариации генов, кодирующих О- и Н-антигены, позволяя изучить влияние мобильных генетических элементов на экспрессию и эволюцию О-антигена [183, 215, 235, 247].

В последние шесть лет рост показателей заболеваемости эшерихиозами в Российской Федерации явился следствием улучшения лабораторной диагностики данной группы инфекций, что связано с активным развитием и внедрением молекулярных методов исследования [70]. Для выявления и дифференциации ДНК различных групп DEC (EPEC, ETEC, EIEC, EHEC, EAgEC) разработан и внедрен набор реагентов для метода ПЦР «АмплиСенс® Эшерихиозы-FL»



(ЦНИИЭ Роспотребнадзора, Москва). Наряду с высоким потенциалом реализации удовлетворительных аналитических характеристик, эта тест-система характеризуется универсальностью, облегчающей выявление эпидемически значимых «классических» и гибридных патогрупп DEC [1, 7, 8, 40, 64, 85, 93, 94]. Тем не менее, в отличие от культурального метода она не дает достаточной информации о фенотипических особенностях возбудителя [6, 42, 76]. Применительно к STEC/ЕНЕС, широкое применение нашли ИФА и ИХА тесты, предназначенные для выявления антигенов O157:H7 и/или шигаподобных токсинов штаммами других серологических групп [64].

В рутинной практике бактериологического исследования методы типирования *E. coli*, вызывающих внекишечную патологию, включая ИМП не используют. Критерием диагноза при ИМП является обнаружение микроорганизмов как минимум  $10^5$  КОЕ в 1 мл мочи. Выявление диагностически значимой бактериурии не дает представление об уровне инфицирования мочевой системы (почечная паренхима, мочевого пузыря) [10]. Поэтому, одной из наиболее важных функций лаборатории клинической микробиологии является осмысленный анализ полученных результатов, а также оценка этиологической значимости выделенного микроорганизма [38]. Врач-микробиолог должен определить, является ли выделенный изолят *E. coli* из конкретного биологического материала истинным возбудителем или это следствие контаминации пробы на каком-либо этапе. Основную сложность при интерпретации результатов, представляют изоляты выделенные из мочи и из перитонеальной жидкости за счет возможной контаминации *E. coli* – представителями нормобиоты кишечника. Несмотря на то, что научные исследования продолжаются, в течение многих лет конкретные критерии для отнесения штаммов к ExPEC не установлены. Согласно результатам, полученным Johnson et al., ExPEC были определены как *E. coli*, содержащие комбинации двух или более маркеров вирулентности, включая гены *pap*, *sfa* / *foc*, *afa/dra*, *kpsMTII* и *iutA* [220]. Другие дополнительные гены (*fimH*, *hlyA*, *cvaC*, *cnf*, *cdtB* *kpsMTIII*, *ibeA*, *traT* и PAI) могут быть связаны со статусом ExPEC. Они кодируют так

называемые потенциальные факторы вирулентности, которые способствуют адаптивной конкурентоспособной колонизации органов и систем человека [220, 318].

Теоретическое осмысление обширного материала о биологических свойствах пула патогенных *E. coli*, необходимо учитывать в практике специалистов различного профиля и разрабатывать стандарты клинической и лабораторной диагностики, лечения и профилактики инфекционных заболеваний, вызванных патогенными *E. coli*.

## РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

### ГЛАВА 2 ХАРАКТЕРИСТИКА БИОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ШТАММОВ *ESCHERICHIA COLI* ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ОСТРЫХ КИШЕЧНЫХ ИНФЕКЦИЙ

В исследование были включены 824 штамма *E. coli*, выделенные в практических бактериологических лабораториях из проб испражнений больных ОКИ, контактных лиц из очагов ОКИ, а также относящихся к декретированной группе населения, обследованных по клиническим и эпидемическим показаниям, присланные для изучения в лабораторию кишечных инфекций ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера. Согласно сопроводительным документам, штаммы 18 серологических групп относились к четырем патогруппам DEC. Из них к EPEC принадлежали 109 штаммов девяти серологических групп: O26, O55, O111, O114, O119, O125, O126, O127, O142; к ETEC – 665 штаммов трех серологических групп: O6, O25, O128; к EIES – 286 штаммов пяти серологических групп: O29, O124, O144, O152, O164; к ENEC – девять штаммов двух серологических групп: O157 и один – неизвестной серогруппы (не – O157). Все штаммы ENEC были выделены от пациентов, перенесших ОКИ с синдромальным диагнозом «гемоколит, осложненный ГУС». Штаммы патогруппы EAgEC отсутствовали в перечне присланных изолятов.

Скрининг принадлежности штаммов к диареегенным *E. coli*, проведенный молекулярным методом, выявил наличие специфичных участков ДНК пяти патогрупп DEC у 160 штаммов (19,4%): 76 (43,9%) штаммов серологических групп O26, O55, O111, O114, O119, O125, O126, O127, O142 принадлежали к EPEC; 14 (8,1%) штаммов серологических групп O25, O128 принадлежали к ETEC; 42 (24,3%) штамма серологических групп O26, O55, O111 принадлежали к STEC, включая O157 и один штамм (не – O157), относящихся к ENEC; 27 (15,6%) штаммов серологических групп O29, O124, O152, O164 принадлежали к EIES; 1 (0,6%) штамм серологической группы O55 – к EAgEC (Таблица 7).

Таблица 7 – Результаты идентификации штаммов *E. coli*

| Патогруппа | Метод         |                                                          |              |                                                          |
|------------|---------------|----------------------------------------------------------|--------------|----------------------------------------------------------|
|            | культуральный |                                                          | молекулярный |                                                          |
|            | п, штаммов    | серогруппа                                               | п, штаммов   | серогруппа                                               |
| ETEC       | 420           | O6, O25, O128                                            | 14           | O25, O128                                                |
| EPEC       | 109           | O26, O55, O111,<br>O114, O119, O125,<br>O126, O127, O142 | 76           | O26, O55, O111,<br>O114, O119, O125,<br>O126, O127, O142 |
| STEC       | 9             | O157, O157, O157                                         | 33           | O26, O55, O111                                           |
| EHEC       |               |                                                          | 9            | O157, O157, O157*                                        |
| EIEC       | 286           | O29, O124, O144,<br>O152, O164                           | 27           | O29, O124, O152,<br>O164                                 |
| EAgEC      | 0             | -                                                        | 1            | O55                                                      |
| Всего      | 824           |                                                          | 160          |                                                          |

Примечание: \*- EHEC – неизвестной серогруппы

Штаммы *E. coli* серологических групп O26 и O111 принадлежали к двум патогруппам: EPEC и EHEC, серогруппы O55 – к трем: EPEC, EHEC и EAgEC.

У 664 (80,6%) штаммов *E. coli* серологических групп O25 (27 штаммов), O6 (380 штаммов) и O144 (257 штаммов) не были выявлены кривые накопления флуоресцентных сигналов, что указывало на отсутствие в этих штаммах специфичных участков ДНК DEC (EPEC, ETEC, EIEC, EHEC, EAgEC). Результаты дальнейшего изучения этих штаммов представлены в главе 6.

В рамках диссертационной работы были исследованы культуральным методом 60 проб испражнений детей и взрослых, пациентов инфекционных стационаров г. Санкт-Петербурга, в которых методом ПЦР набором «АмплиСенс Эшерихиозы – FL» были выявлены ДНК патогруппы EAgEC. Из каждой пробы были выделены *E. coli*, ассоциированные с патогруппой EAgEC.

Таким образом, коллекция DEC включала 233 штамма пяти патогрупп (EPEC, ETEC, EIEC, EHEC, EAgEC).

Видовую идентификацию штаммов проводили с использованием: – времяпролетной масс-спектрометрией (MALDI-TOF), бактериологического анализатора Vitek®2 Compact, пробирочных и планшетных биохимических тестов. Каждый из методов подтвердил принадлежность культур к роду

*Escherichia*, виду *Escherichia coli*. Время, затраченное на идентификацию, варьировало: от нескольких минут (MALDI-TOF) до 6 часов (бактериологический анализатор) и 18-24 часа (пробирочные и планшетные тесты).

**Ферментативные свойства.** В отличие от MALDI-TOF, другие идентификационные методы позволили получить подробную ферментативную (биохимическую) характеристику штаммов. Все штаммы DEC характеризовались типичными видовыми признаками *Escherichia coli*: давали положительную реакцию с метиловым красным и отрицательную Фогес-Проскауэра, не расщепляли мочевины, не образовывали сероводород и фенилаланиндезаминазу, не ферментировали инозит и адонит, не росли на цитратном агаре Симмонса, были индол положительными, ферментировали маннит и глюкозу до кислоты и газа, обладали  $\beta$ -галактазидазной активностью. По ферментативным свойствам штаммы DEC проявляли вариабельность в отношении углеводов: лактозы, сахарозы, арабинозы, мальтозы, ксилозы, рамнозы; спиртов: дульцита, сорбита, салицина; аминокислот: орнитина, лизина, аргинина (Таблица 8).

Таблица 8 – Основные ферментативные свойства штаммов DEC (% положительных реакций)

| Тест или субстрат      | ЕРЕС<br>n=76 | ЕТЕС<br>n=14 | ЕІЕС<br>n=27 | STEC<br>n=42 | ЕАgЕС<br>n=74 |
|------------------------|--------------|--------------|--------------|--------------|---------------|
| Лактоза                | 100          | 100          | 0            | 100          | 95,9          |
| Сахароза               | 97,4         | 14,3         | 0            | 83,3         | 32,4          |
| Арабиноза              | 100          | 100          | 100          | 100          | 59,5          |
| Мальтоза               | 55,3         | 100          | 100          | 19,0         | 100           |
| Ксилоза                | 100          | 100          | 100          | 100          | 79,7          |
| Рамноза                | 48,7         | 100          | 100          | 95,2         | 100           |
| Дульцит                | 75           | 100          | 100          | 83,3         | 41,9          |
| Сорбит                 | 100          | 100          | 100          | 19,4         | 100           |
| Салицин                | 60,5         | 0            | 100          | 23,8         | 35,1          |
| Орнитин                | 63,2         | 100          | 0            | 78,6         | 78,4          |
| Лизин                  | 65,8         | 100          | 0            | 95,2         | 100           |
| Аргинин                | 80,3         | 14,3         | 0            | 61,9         | 0             |
| $\beta$ -глюкоронидаза | 100          | 100          | 100          | 19,4         | 100           |

Указанные вариабельные свойства не имели клинического значения, не позволяли дифференцировать патогруппы DEC, за исключением EIES, которые, как правило, не ферментируют лактозу и сахарозу, не декарбоксилируют лизин и EHEC O157 (не ферментируют сорбит, дают отрицательную реакцию в тесте с  $\beta$ -глюкоронидазой), могут учитываться как «эпидемиологическая метка» штаммов EIES и EHEC серовара O157:H7.

**Антигенная характеристика.** Реидентификацию О- и Н- антигенов штаммов *E. coli* проводили двумя методами: классическим микробиологическим (определение О – группы в реакции агглютинации с диагностическими О – эшерихиозными сыворотками); молекулярно-генетическим (детекция генов *rfb* и *fliC*, кодирующих синтез О – и Н – антигенов). В Российской Федерации многие десятилетия промышленно выпускается ограниченный набор диагностических сывороток для определения 44 О –антигенов *E. coli*, сыворотки для определения Н – антигенов не производят.

Реидентификация О – группы подтвердила результаты, полученные в практических бактериологических лабораториях. Молекулярное серотипирование выявило у всех штаммов *rfb* гены соответствующих О – антигенов и позволило установить О – серогруппу 145 у нетипируемого штамма EHEC. У 60 штаммов EAgEC, выделенных из проб испражнений, О-антиген в реакции агглютинации с отечественными О-сыворотками установить не удалось. EAgEC являются новой малоизученной патогруппой, результаты антигенного строения представлены в отдельном разделе (стр. 112).

Из общего числа изученных штаммов DEC 42 были неподвижными: шесть штаммов EPEC O114 (O114:H-), четыре штамма ETEC O25 (O25:H-), 27 штаммов EIES (O29:H-, O124:H-, O152:H-, O164:H-) и пять штаммов EHEC 157 (O157:H-).

Идентификацию серологического варианта у подвижных штаммов (191), проводили методом молекулярного серотипирования (детекция генов *fliC*, кодирующих продукцию жгутиковых Н-антигенов). У неподвижных штаммов *fliC* не определяли, за исключением пяти штаммов *E. coli* O157. Антигенная характеристика штаммов представлена в таблице 9.

Таблица 9 – Антигенная характеристика штаммов DEC

| Патогруппа    | О-антиген | <i>rfb</i>                | <i>fliC</i>                                           | Антигенная формула  | Количество штаммов |
|---------------|-----------|---------------------------|-------------------------------------------------------|---------------------|--------------------|
| EPEC          | O26       | <i>rfb</i> <sub>26</sub>  | <i>fliC</i> <sub>11</sub>                             | O26:H11             | 34                 |
|               | O55       | <i>rfb</i> <sub>55</sub>  | <i>fliC</i> <sub>6</sub>                              | O55:H6              | 4                  |
|               | O111      | <i>rfb</i> <sub>111</sub> | <i>fliC</i> <sub>2</sub>                              | O111:H2             | 14                 |
|               | O114      | <i>rfb</i> <sub>114</sub> | NM*                                                   | O114: H-            | 6                  |
|               | O119      | <i>rfb</i> <sub>119</sub> | <i>fliC</i> <sub>6</sub>                              | O119:H6             | 2                  |
|               | O125      | <i>rfb</i> <sub>125</sub> | <i>fliC</i> <sub>6</sub>                              | O125:H6             | 1                  |
|               | O126      | <i>rfb</i> <sub>126</sub> | <i>fliC</i> <sub>2</sub>                              | O126:H2             | 4                  |
|               | O127      | <i>rfb</i> <sub>127</sub> | <i>fliC</i> <sub>6</sub><br><i>fliC</i> <sub>40</sub> | O127:H6<br>O127:H40 | 3<br>3             |
|               | O142      | <i>rfb</i> <sub>142</sub> | <i>fliC</i> <sub>6</sub><br><i>fliC</i> <sub>34</sub> | O142:H6<br>O142:H34 | 3<br>2             |
| ETEC          | O25       | <i>rfb</i> <sub>25</sub>  | NM                                                    | O25: H-             | 4                  |
|               |           |                           | <i>fliC</i> <sub>42</sub>                             | O25: H42            | 8                  |
|               | O128      | <i>rfb</i> <sub>128</sub> | <i>fliC</i> <sub>7</sub>                              | O128:H7             | 2                  |
| EIEC          | O29       | <i>rfb</i> <sub>29</sub>  | NM                                                    | O29:H-              | 4                  |
|               | O124      | <i>rfb</i> <sub>124</sub> | NM                                                    | O124:H-             | 3                  |
|               | O152      | <i>rfb</i> <sub>152</sub> | NM                                                    | O152:H-             | 9                  |
|               | O164      | <i>rfb</i> <sub>164</sub> | NM                                                    | O164:H-             | 11                 |
| STEC/<br>EHEC | O26       | <i>rfb</i> <sub>26</sub>  | <i>fliC</i> <sub>11</sub>                             | O26:H11             | 24                 |
|               | O55       | <i>rfb</i> <sub>55</sub>  | <i>fliC</i> <sub>7</sub>                              | O55:H7              | 2                  |
|               | O111      | <i>rfb</i> <sub>111</sub> | <i>fliC</i> <sub>8</sub>                              | O111:H8             | 7                  |
|               | ONT       | <i>rfb</i> <sub>145</sub> | <i>fliC</i> <sub>28</sub>                             | O145:H28            | 1                  |
|               | O157      | <i>rfb</i> <sub>157</sub> | <i>fliC</i> <sub>7</sub>                              | O157: H7            | 8                  |
| EAgEC         | O55       | <i>rfb</i> <sub>55</sub>  | <i>fliC</i> <sub>21</sub>                             | O55:H21             | 1                  |

Примечание: NM\*- неподвижный штамм

В результате проведенного молекулярного серотипирования DEC были установлены 16 О – серологических групп, из которых 15 совпадали с результатами микробиологического тестирования и одна – O145 была установлена молекулярным методом. По результатам детекции генов *fliC*, штаммы шести серологических групп EPEC относились к одному серологическому варианту O26:H11, O55:H6, O111:H2, O119:H6, O125:H6, O126:H2. Штаммы серологических групп *E. coli* O127 и O142 были представлены двумя сероварами: O127:H6 и O127:H40, O142:H6 и O142:H34. Штаммы ETEC были представлены двумя серологическим группами O25:H42 и O128:H7.

Патогруппа STEC/ЕНЕС была представлена штаммами, относившимся к пяти серологическим вариантам: O26:H11, O55:H7, O111:H8, O145:H28, O157:H7. Штамм EAgEC O55 относился к неопisanному ранее серовару O55:H21.

Проведенное исследование показало, что широко распространенный в практических бактериологических лабораториях метод определения только О-антигена штаммов *E. coli* является недостаточным для отнесения их к конкретным патогруппам, так как каждая О – группа представлена сероварами, различающимися по Н-антигену, этиологическая и эпидемиологическая значимость которых неодинакова. Определение Н – антигена позволяет обоснованно устанавливать принадлежность выделенного штамма к патогруппе DEC, тем самым уменьшая ошибки интерпретации метода серотипирования. Известно, что штаммы серологической группы O25, в зависимости от Н – антигена являются возбудителями ОКИ – O25:H42 (патогруппа ETEC) и внекишечных инфекций – O25:H4 (патогруппа UPEC) [146, 155, 190, 362]. Диареогенные штаммы *E. coli* серологических групп O55 в зависимости от Н – антигена относят к EPEC (O55:H6), STEC (O55:H7) и EAgEC (O55:H21); серологической группы O111 – к EPEC (O111:H2) и STEC (O111:H8) [117, 118, 120, 188, 227, 238, 239, 251, 340, 350].

*E. coli* серологического варианта O26:H11 включают штаммы EPEC и STEC, дифференциация которых возможна только при детекции генов вирулентности или продукции шигаподобных токсинов. Следует отметить, что детекция патогруппы STEC/ЕНЕС имеет важное клиническое, эпидемиологическое и экологическое значение по сравнению с антигенной характеристикой штамма. Известно, что штаммы STEC/ЕНЕС способны к широкому эпидемическому распространению, заболевания могут протекать с осложнениями, угрожающими жизни (ГУС), требуют коррекции терапии, проведению целенаправленных профилактических и противоэпидемических мероприятий.

**Филогенетические группы.** Изучение филогенетической принадлежности штаммов DEC показало, что по суммарным данным они относились к четырем основным филогенетическим группам. К филогенетической группе А



принадлежали 65 (27,9%), к группе В1 относились 98 (42,1%), к В2 – 54 (23,2%), к филогруппе D принадлежали 16 (6,8%) штаммов соответственно. Результаты изучения штаммов представлены в таблице 10 и на рисунке 2.

Таблица 10 – Филогенетические группы штаммов DEC

| Патогруппа DEC | Филогенетические группы |            |            |           |           |
|----------------|-------------------------|------------|------------|-----------|-----------|
|                |                         | A          | B1         | B2        | D         |
| EPEC           | абс                     | 24         | 52         |           |           |
|                | %                       | 31,6       | 68,4       |           |           |
|                | 95%ДИ                   | 21,4-43,3  | 56,8-78,6  |           |           |
| ETEC           | абс                     | 14         |            |           |           |
|                | %                       | 100        |            |           |           |
|                | 95%ДИ                   | 76,8-100,0 |            |           |           |
| EIEC           | абс                     | 17         |            |           | 10        |
|                | %                       | 63,0       |            |           | 37,0      |
|                | 95%ДИ                   | 42,4-80,6  |            |           | 19,4-57,6 |
| STEC/ЕНЕС      | абс                     |            | 42         |           |           |
|                | %                       |            | 100        |           |           |
|                | 95%ДИ                   |            | 91,6-100,0 |           |           |
| EAgEC          | абс                     | 10         | 4          | 54        | 6         |
|                | %                       | 13,5       | 5,4        | 73,0      | 8,1       |
|                | 95%ДИ                   | 6,7-23,5   | 1,5-13,3   | 61,4-82,7 | 3,0-16,8  |
| Всего          | абс                     | 65         | 98         | 54        | 16        |
|                | %                       | 27,9       | 42,1       | 23,2      | 6,8       |
|                | 95%ДИ                   | 22,2-34,1  | 35,6-48,7  | 17,9-29,1 | 4,0-10,9  |

Штаммы ETEC принадлежали к филогенетической группе А. Шигатоксин-продуцирующие штаммы (STEC), включая ЕНЕС, относились к филогенетической группе В1. EPEC были представлены штаммами, принадлежащими к двум филогруппам – А и В1, EIEC – А и D. EAgEC характеризовались вариабельностью филогенетического распределения, что проявлялось в принадлежности штаммов к четырем основным филогруппам с преобладанием группы В2 (73,0%).

**Чувствительность к АМП.** Результаты изучения чувствительности к АМП 233 штаммов DEC показали, что по суммарным данным чувствительными ко всем тестируемым препаратам были 35,2% штамма (Таблица 11, Рисунок 3).

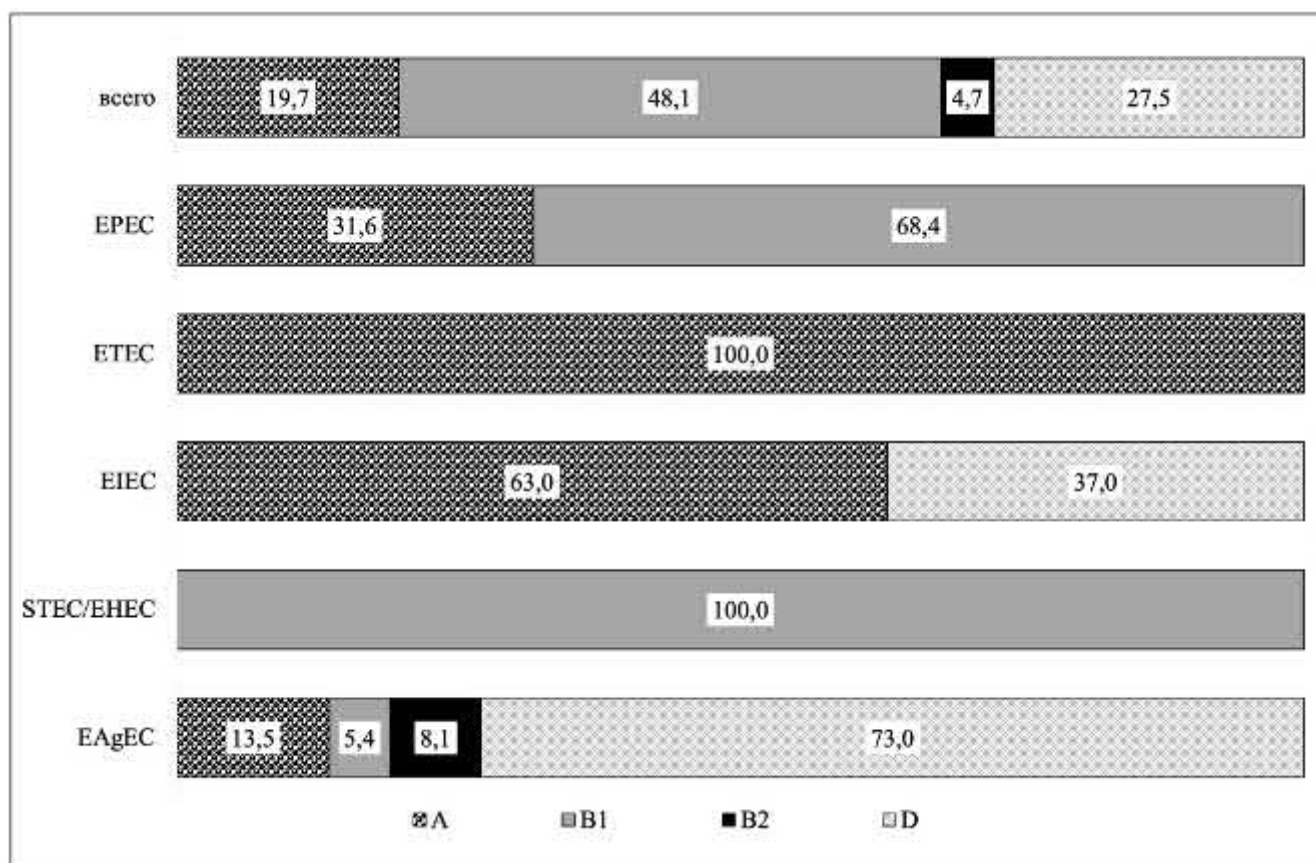


Рисунок 2 – Филогенетические группы штаммов DEC (%)

Чувствительность к ампициллину сохранялась у 45,9% штаммов. К цефалоспорином III-IV поколения (цефтазидиму, цефотаксиму, цефепиму) сохраняли чувствительность 72,5%, 67,4% и 74,7% штаммов соответственно. Фармакодинамические преимущества ингибиторозащищенного амоксициллин/клавуланата в отношении цефалоспоринов III -IV поколений выявлены не были. Все штаммы DEC были чувствительны к меропенему (группа карбапенемов). К препаратам группы хилонов (налидиксовая кислота) и фторхилонов (ципрофлоксацин) чувствительными были 74,7% и 80,7% штаммов соответственно. Из аминогликозидов высокой активностью обладал амикацин – 99,1% тестируемых штаммов были к нему чувствительными. К гентамицину чувствительность была ниже и составляла 81,1%. К препаратам группы тетрациклинов, фениколов и нитрофуранов чувствительными были 63,5%, 79,8 и 97,9% штаммов соответственно. Доля чувствительных к сульфаниламидам и триметоприм/сульфаметоксазолу штаммов DEC составляла 76,8% и 66,5%

Таблица 11 – Характеристика диареегенных штаммов *E. coli* по чувствительности к АМП

| Антимикробный препарат           | ЕРЕС |      |           | ЕНЕС |      |            | ЕТЕС |      |           | ЕІЕС |      |            | ЕАgЕС |      |           |
|----------------------------------|------|------|-----------|------|------|------------|------|------|-----------|------|------|------------|-------|------|-----------|
|                                  | abc  | %    | 95% ДИ    | abc  | %    | 95% ДИ     | abc  | %    | 95% ДИ    | abc  | %    | 95% ДИ     | abc   | %    | 95% ДИ    |
| ампициллин                       | 51   | 67,1 | 55,4-77,5 | 23   | 54,8 | 38,7-70,2  | 11   | 78,6 | 49,2-95,3 | 5    | 27,8 | 9,7-53,5   | 9     | 12,2 | 5,7-21,8  |
| амоксациллин/<br>клавуланат      | 66   | 86,8 | 77,1-93,5 | 36   | 85,7 | 71,5-94,6  | 12   | 85,7 | 57,2-98,9 | 17   | 94,4 | 72,7-99,9  | 31    | 41,9 | 30,5-53,9 |
| цефтазидим                       | 68   | 89,5 | 80,3-95,3 | 38   | 90,5 | 77,4-97,3  | 14   | 100  | 76,8-100  | 17   | 94,4 | 72,7-99,9  | 28    | 37,8 | 26,8-49,9 |
| цефотаксим                       | 63   | 82,9 | 72,5-90,6 | 34   | 81,0 | 65,9-91,4  | 14   | 100  | 76,8-100  | 16   | 88,9 | 65,3-98,6  | 29    | 39,2 | 28,0-51,2 |
| цефепим                          | 72   | 94,7 | 87,1-98,6 | 39   | 92,9 | 80,5-98,5  | 14   | 100  | 76,8-100  | 16   | 88,9 | 65,3-98,6  | 31    | 41,9 | 30,5-53,9 |
| налидиксовая<br>кислота          | 61   | 80,3 | 69,5-88,5 | 34   | 81,0 | 65,9-91,4  | 11   | 78,6 | 49,2-95,3 | 15   | 83,3 | 58,6-96,4  | 49    | 66,2 | 54,3-76,8 |
| ципрофлоксацин                   | 62   | 81,6 | 71,0-89,6 | 34   | 81,0 | 65,9-91,4  | 11   | 78,6 | 49,2-95,3 | 15   | 83,3 | 58,6-96,4  | 64    | 86,5 | 76,6-93,3 |
| гентамицин                       | 68   | 89,5 | 80,3-95,3 | 39   | 92,9 | 80,5-98,5  | 12   | 85,7 | 57,2-98,9 | 15   | 83,3 | 58,6-96,4  | 49    | 66,2 | 54,3-76,8 |
| амикацин                         | 76   | 100  | 95,3-100  | 42   | 100  | 91,6-100,0 | 14   | 100  | 76,8-100  | 18   | 100  | 81,5-100,0 | 49    | 66,2 | 54,3-76,8 |
| нитрофурантоин                   | 73   | 96,1 | 88,9-99,2 | 41   | 97,6 | 87,4-99,9  | 14   | 100  | 76,8-100  | 18   | 100  | 81,5-100,0 | 73    | 98,6 | 92,7-100  |
| тетрациклин                      | 62   | 81,6 | 71,0-89,6 | 36   | 85,7 | 71,5-94,6  | 12   | 85,7 | 57,2-98,9 | 13   | 72,2 | 46,5-90,3  | 21    | 28,4 | 18,5-40,1 |
| хлорамфеникол                    | 72   | 94,7 | 87,1-98,6 | 40   | 95,2 | 83,8-99,4  | 14   | 100  | 76,8-100  | 17   | 94,4 | 72,7-99,9  | 34    | 45,9 | 34,3-57,9 |
| сульфаниламид                    | 58   | 76,3 | 65,2-85,3 | 36   | 85,7 | 71,5-94,6  | 10   | 71,4 | 41,9-91,6 | 15   | 83,3 | 58,6-96,4  | 55    | 74,3 | 62,8-83,8 |
| триметоприм/<br>сульфаметоксазол | 58   | 76,3 | 65,2-85,3 | 36   | 85,7 | 71,5-94,6  | 12   | 85,7 | 57,2-98,9 | 16   | 88,9 | 65,3-98,6  | 28    | 37,8 | 26,8-49,9 |
| Итого                            | 39   | 51,3 | 39,6-63,0 | 19   | 45,2 | 29,9-61,3  | 7    | 50,0 | 23,0-77,0 | 9    | 50,0 | 26,0-74,0  | 8     | 10,8 | 4,8-20,2  |

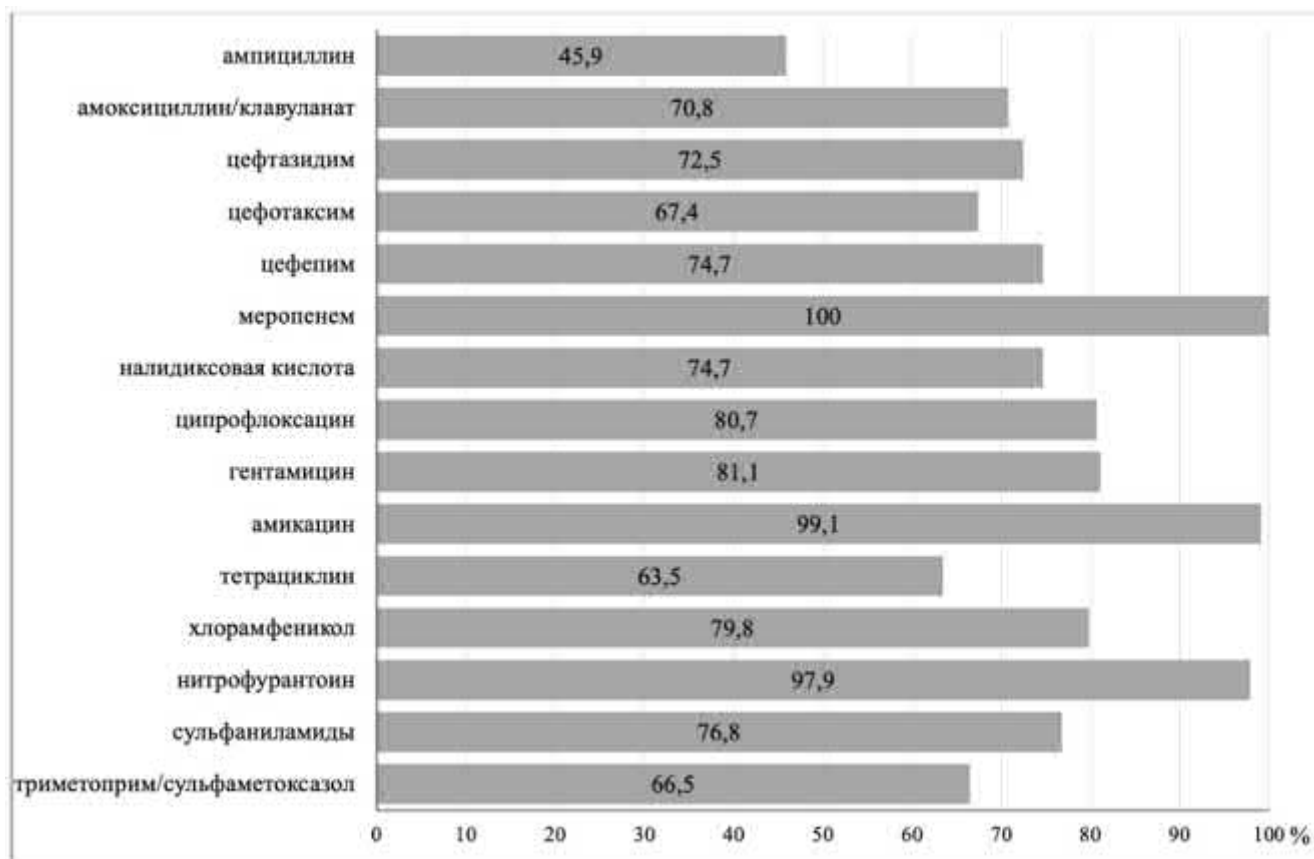


Рисунок 3 – Чувствительность к АМП штаммов диареегенных *E. coli*

соответственно. В популяции DEC штаммы, обладающие множественной резистентностью к трем и более классам АМП (MDR- фенотип), составляли 43,8% из них экстремальной резистентностью (XDR) ко всем препаратам за исключением одного или двух классов характеризовались 6,9% штаммов. Детальная характеристика устойчивости к АМП и механизмов резистентности к β-лактамам штаммов патогрупп DEC представлена в главе 5.

## 2.1 Характеристика энтеропатогенных штаммов *E. coli*

**Ферментативные свойства.** Детальное изучение ферментативных свойств 76 штаммов ЕРЕС девяти серологических групп и 11 серологических вариантов O26:H11, O55:H6, O111:H2, O114:H-, O119:H6, O125:H6, O126:H2, O127:H6, O127:H40, O142:H6, O142:H34 показало их принадлежность к биохимически активному варианту *Escherichia coli*. В таблице 12 представлена характеристика ферментативных свойств штаммов ЕРЕС.

Таблица 12 – Особенности ферментативных свойств штаммов ЕРЕС

| Серовар                                                            | Число штаммов | Газ на глюкозе | Лактоза | Маннит | Сахароза | Арабиноза | Мальтоза | Ксилоза | Рамноза | Дульцит | Сорбит | Салицин | Орнитин | Лизин | Аргинин |
|--------------------------------------------------------------------|---------------|----------------|---------|--------|----------|-----------|----------|---------|---------|---------|--------|---------|---------|-------|---------|
| Биовары <i>E. coli</i> O26:H11                                     |               |                |         |        |          |           |          |         |         |         |        |         |         |       |         |
| O26:H11                                                            | 23            | +              | +       | +      | +        | +         | +        | +       | +       | +       | +      | +       | +       | +     | +       |
|                                                                    | 11            | +              | +       | +      | +        | +         | -        | +       | -       | -       | +      | +       | -       | -     | +       |
| <i>E. coli</i> O127:H6 и O127:H40                                  |               |                |         |        |          |           |          |         |         |         |        |         |         |       |         |
| O127:H6                                                            | 3             | +              | +       | +      | +        | +         | +        | +       | +       | +       | +      | -       | -       | +     | +       |
| O127:H40                                                           | 3             | +              | +       | +      | +        | +         | +        | +       | +       | +       | +      | +       | +       | +     | -       |
| <i>E. coli</i> O142:H6 и O142:H34                                  |               |                |         |        |          |           |          |         |         |         |        |         |         |       |         |
| O142:H6                                                            | 3             | +              | +       | +      | +        | +         | +        | +       | -       | -       | +      | -       | +       | +     | -       |
| O142:H34                                                           | 2             | +              | +       | +      | -        | +         | +        | +       | -       | -       | +      | -       | +       | -     | -       |
| <i>E. coli</i> O55:H6, O111:H2, O114:H-, O119:H6, O125:H6, O126:H2 |               |                |         |        |          |           |          |         |         |         |        |         |         |       |         |
| O55:H6                                                             | 4             | +              | +       | +      | +        | +         | -        | +       | +       | +       | +      | -       | -       | -     | +       |
| O111:H2                                                            | 14            | +              | +       | +      | +        | +         | -        | +       | -       | +       | +      | -       | +       | +     | +       |
| O114: H-                                                           | 6             | +              | +       | +      | +        | +         | +        | +       | +       | +       | +      | +       | +       | +     | -       |
| O119:H6                                                            | 2             | +              | +       | +      | +        | +         | -        | +       | -       | +       | +      | +       | -       | -     | +       |
| O125:H6                                                            | 1             | +              | +       | +      | +        | +         | +        | +       | +       | +       | +      | +       | -       | +     | -       |
| O126:H2                                                            | 4             | +              | +       | +      | +        | +         | +        | +       | -       | +       | +      | -       | -       | -     | +       |

Примечание: «+» - положительная реакция; «-» - отрицательная реакция

Штаммы серовара O26:H11 включали два известных биовара, которые различались по ферментации пяти субстратов (рамнозы, мальтозы, дульцита, орнитина и лизина). К биовару I принадлежали 23 штамма, которые расщепляли и декарбоксилировали перечисленные субстраты, к биовару II относились 11 штаммов, которые не ферментировали перечисленные субстраты.

*E. coli* серогруппы O127 были представлены двумя серологическими вариантами O127:H6 и O127:H40, каждый из которых имел ферментативные особенности по отношению к салицину, орнитину и аргинину. Штаммы *E. coli* O127:H6 давали отрицательный результат по салицину и орнитину, положительный по аргинину. Штаммы *E. coli* O127:H40 имели противоположные

характеристики по перечисленным субстратам.

*E. coli* серогруппы O142 были представлены двумя сероварами O142:H6 и O142:H34, каждый из которых имел ферментативные особенности по отношению к сахарозе и лизину. Штаммы *E. coli* O142:H6 ферментировали сахарозу и декарбоксилировали лизин в отличие от штаммов серовара O142:H34.

Другие серовары ЕРЕС (O55:H6, O111:H2, O114:H-, O119:H6, O125:H6, O126:H2) были представлены стабильными индивидуальными ферментативными вариантами, отличающимися по расщеплению от одного до пяти субстратов. Выявленные особенности ферментативных свойств не имеют клинического значения, в то же время они могут использоваться как «эпидемиологическая метка» штаммов ЕРЕС.

**Продукция гемолизина.** Продукция энтерогемолизина на агаре с 5% дефибринированной кровью барана и 10,0 М CaCl<sub>2</sub> у всех изученных штаммов ЕРЕС не была выявлена. α-гемолизирующей активностью характеризовались только штаммы *E. coli* O26:H11 (биовара I и биовара II), которая выявлялась на агаре с 5% бараньими эритроцитами.

**Гены, кодирующие факторы вирулентности ЕРЕС.** Определяли генетические детерминанты, характерные для штаммов патогруппы ЕРЕС: гены адгезии, кодирующие пучок формирующие пили (*bfp*), белок наружной мембраны – интимин (*eae*), плазмиду фактора адгезии ЕРЕС (*eaf*); гены токсинообразования, ответственные за синтез α-гемолизина (*hlyA*) и энтерогемолизина (*ehxA1*). Согласно данным литературы, штаммы патогруппы ЕРЕС по наличию / отсутствию гена *bfp* подразделяют на типичные t-ЕРЕС<sub>*bfp*+</sub> (содержат ген *bfp*) и атипичные a- ЕРЕС<sub>*bfp*-</sub> (ген *bfp* отсутствует) [153, 190, 191, 194, 202, 251, 275]. Результаты представлены в таблице 13.

Штаммы *E. coli* сероваров O114:H-, O119:H6, O125:H6, O126:H2, O127:H6, O127:H40, O142:H6 и O142:H34 относились к t-ЕРЕС: содержали три гена, ассоциированные с адгезией ЕРЕС (*eae* и *eaf*), и ген *bfp*. В штаммах *E. coli* O26:H11, O55:H6 и O111:H2 был выявлен ген *eae*, гены *eaf* и *bfp* не были выявлены, что позволило отнести их подгруппе a-ЕРЕС.

Таблица 13 – Молекулярно-генетическая характеристика штаммов ЕРЕС

| Серовар  | Число штаммов | Гены вирулентности |            |            |             |              | Подгруппа патогруппы |
|----------|---------------|--------------------|------------|------------|-------------|--------------|----------------------|
|          |               | <i>bfp</i>         | <i>eae</i> | <i>eaf</i> | <i>hlyA</i> | <i>ehxA1</i> |                      |
| O26:H11  | 34            | -                  | +          | -          | +           | -            | a-EPEC               |
| O55:H6   | 4             | -                  | +          | -          | -           | -            | a-EPEC               |
| O111:H2  | 12            | -                  | +          | -          | -           | -            | a-EPEC               |
| O114: H- | 6             | +                  | +          | +          | -           | -            | t-EPEC               |
| O119:H6  | 2             | +                  | +          | +          | -           | -            | t-EPEC               |
| O125:H6  | 1             | +                  | +          | +          | -           | -            | t-EPEC               |
| O126:H2  | 4             | +                  | +          | +          | -           | -            | t-EPEC               |
| O127:H6  | 3             | +                  | +          | +          | -           | -            | t-EPEC               |
| O127:H40 | 3             | +                  | +          | +          | -           | -            | t-EPEC               |
| O142:H6  | 3             | +                  | +          | +          | -           | -            | t-EPEC               |
| O142:H34 | 2             | +                  | +          | +          | -           | -            | t-EPEC               |

Примечание: «+» - ген присутствует; «-» - ген отсутствует

Штаммы *E. coli* O55:H6, O111:H2, O119:H6, O125:H6, O126:H2, O127:H6, O127:H40, O142:H6 и O142:H34 не имели генов токсинообразования *hlyA* и *ehxA1*. В штаммах *E. coli* O26:H11 присутствовал ген *hlyA*, фенотипическая экспрессия которого была описана выше.

**Чувствительность к АМП.** По суммарным данным чувствительными ко всем тестируемым АМП были 52,6% штаммов ЕРЕС (t-EPEC+a-EPEC). Доля чувствительных штаммов в популяции t-EPEC составляла 54,2%, в популяции a-EPEC – 51,9%. У всех штаммов отмечена 100% чувствительность к меропенему и амикацину. Результаты чувствительности представлены в таблице 14. Чувствительность к β-лактамам АМП составляла: к ампициллину – 67,1%, амоксициллин / клавуланату – 86,8%, цефалоспорином III-IV поколения (цефтазидиму, цефотаксиму, цефепиму) – 89,5%, 82,9% и 94,7% штаммов соответственно. Доля чувствительных штаммов к группе хинолонов / фторхинолонов составляла 80,3% / 81,6%. К гентамицину чувствительными были 89,5%. Чувствительность к тетрациклину, хлормфениколу и нитрофурантоину была выявлена у 81,6%, 94,7% и 96,1% штаммов. Доля чувствительных штаммов к препаратам группы сульфаниламидов и триметоприма была на одном уровне, и составляла 76,3%. Результаты изучения механизмов резистентности к β-

лактамным АМП штаммов ЕРЕС представлены в главе 5. Статистические различия в уровнях чувствительности к АМП между штаммами разных подгрупп ЕРЕС выявлены не были ( $p > 0,05$ ). Фенотип MDR был выявлен у 25% штаммов (t-ЕРЕС+а-ЕРЕС). Доля MDR штаммов в популяции t-ЕРЕС составляла 29,2%, в популяции а-ЕРЕС – 23,1%. Фенотип XDR был выявлен только в штаммах а-ЕРЕС, его доля составляла 33,3% среди MDR штаммов.

Таблица 14 – Чувствительность к антимикробным препаратам штаммов ЕРЕС

| Антимикробный препарат           | Всего<br>n=76 |       | t-ЕРЕС<br>n=24 |      | 95% ДИ    | а-ЕРЕС<br>n=52 |      | 95% ДИ    |
|----------------------------------|---------------|-------|----------------|------|-----------|----------------|------|-----------|
|                                  | абс           | %     | абс            | %    |           | абс            | %    |           |
| ампициллин                       | 51            | 67,1  | 14             | 58,3 | 36,4-77,9 | 37             | 71,2 | 56,9-82,9 |
| амоксациллин/<br>клавуланат      | 66            | 86,8  | 18             | 75,0 | 53,3-90,2 | 48             | 92,3 | 81,5-97,9 |
| цефтазидим                       | 68            | 89,5  | 22             | 91,7 | 73,0-99,0 | 46             | 88,5 | 76,6-95,7 |
| цефотаксим                       | 63            | 82,9  | 21             | 87,5 | 67,6-97,3 | 42             | 80,8 | 67,5-90,4 |
| цефепим                          | 72            | 94,7  | 22             | 91,7 | 73,0-99,0 | 50             | 96,2 | 86,8-99,5 |
| меропенем                        | 76            | 100,0 | 24             | 100  | 85,8- 100 | 52             | 100  | 93,2-100  |
| налидиксовая<br>кислота          | 61            | 80,3  | 20             | 83,3 | 62,6-95,3 | 41             | 78,8 | 65,3-88,9 |
| ципрофлоксацин                   | 62            | 81,6  | 19             | 79,2 | 57,9-93,0 | 43             | 82,7 | 69,7-91,8 |
| гентамицин                       | 68            | 89,5  | 20             | 83,3 | 62,6-95,3 | 48             | 92,3 | 81,5-97,9 |
| амикацин                         | 76            | 100,0 | 24             | 100  | 85,8- 100 | 52             | 100  | 93,2-100  |
| тетрациклин                      | 62            | 81,6  | 18             | 75,0 | 53,3-90,2 | 44             | 84,6 | 71,9-93,1 |
| хлорамфеникол                    | 72            | 94,7  | 20             | 83,3 | 62,6-95,3 | 52             | 100  | 93,2-100  |
| нитрофурантоин                   | 73            | 96,1  | 23             | 95,8 | 78,9-99,9 | 50             | 96,2 | 86,8-99,5 |
| сульфаниламид                    | 58            | 76,3  | 16             | 66,7 | 44,7-84,4 | 42             | 80,8 | 67,5-90,4 |
| триметоприм/<br>сульфаметоксазол | 58            | 76,3  | 16             | 66,7 | 44,7-84,4 | 42             | 80,8 | 67,5-90,4 |

## 2.2 Характеристика энтеротоксигенных штаммов *E. coli*

Коллекция ЕТЕС была представлена штаммами двух серологических групп О25 и О128, из них: 12 штаммов *E. coli* О25 включали два серологических варианта: четыре неподвижных штамма О25:Н- и восемь О25:42; штаммы серологической группы О128 принадлежали к одному серовару О128:Н7.

**Ферментативные свойства.** Штаммы *E. coli* О25:Н- и О25:42 принадлежали к одному биохимически активному варианту *E. coli*, ферментировали все углеводы



(глюкозу, лактозу, сахарозу, арабинозу, мальтозу, ксилозу, рамнозу), спирты (дульцит, сорбит, маннит, салицин) и аминокислоты (лизин, аргинин, орнитин). Штаммы *E. coli* O128:H7 отличались отсутствием ферментации сахарозы и аргинина. Общая ферментативная характеристика штаммов ЕТЕС представлена в таблице 8. Выявленные особенности ферментативных свойств не имеют клинического и эпидемиологического значения.

**Продукция гемолизин.** Все штаммы ЕТЕС (O25 и O128) характеризовались  $\alpha$ -гемолизующей активностью, которая выявлялась на питательном агаре с 5% бараными эритроцитами. Продукция энтерогемолизина на 5% кровяном агаре с 10,0 М CaCl<sub>2</sub> у изученных штаммов ЕТЕС не выявлена.

**Гены, кодирующие факторы вирулентности ЕТЕС.** Генетические детерминанты вирулентности, кодирующие факторы патогенности ЕТЕС представлены в таблице 15. Выявлено, что в штаммах *E. coli* O25:H-, O25:42 и O128:H7 присутствовал ген *cfa*, контролирующий синтез маннозорезистентных фимбрий (CFA) – фактора адгезии ЕТЕС к эпителиоцитам тонкого кишечника, и ген *hlyA*, ответственный за продукцию  $\alpha$ -гемолизина, экспрессия которого была подтверждена фенотипическим методом.

Таблица 15 – Молекулярно-генетическая характеристика штаммов ЕТЕС

| Серovar | Число штаммов | <i>cfa</i> | <i>hlyA</i> | <i>elt</i> | <i>est</i> |
|---------|---------------|------------|-------------|------------|------------|
| O25:H-  | 4             | +          | +           | +          | -          |
| O25:H42 | 8             | +          | +           | +          | -          |
| O128:H7 | 2             | +          | +           | -          | +          |

Примечание: «+» - ген присутствует; «-» - ген отсутствует

Все штаммы обладали способностью к продукции энтеротоксинов. Штаммы *E. coli* O25:H- и O25:H42 содержали ген *elt*, ответственный за продукцию термолабильного энтеротоксина (LT), в штаммах *E. coli* O128:H7 был выявлен ген *est*, ответственный за продукцию термостабильного энтеротоксина (ST).

**Чувствительность к АМП.** Характеристика чувствительности к АМП штаммов ЕТЕС представлена в таблице 16. По суммарным данным чувствительными ко

всем тестируемым препаратам были 50% штаммов. Независимо от принадлежности к серологическому варианту ЕТЕС, чувствительность сохранялась у 100% штаммов к цефалоспорином III-IV поколения (цефтазидиму, цефотаксиму, цефепиму), карбапенемам (меропенему), хлорамфениколу, нитрофурантоину и амикацину. К другим препаратам доля чувствительных штаммов составляла: к ампициллину, амоксициллин / клавуланату, тетрациклину, триметоприм / сульфаметоксазолу и гентамицину 85,7%, к хинолонам / фторхинолонам (налидиксовая кислота / ципрофлоксацин) – 78,6%, к сульфаниламидам – 71,4% соответственно. Фенотип MDR не был выявлен ни у одного штамма ЕТЕС.

Таблица 16 – Чувствительность ЕТЕС к антимикробным препаратам

| Антимикробный препарат         | Всего<br>n=14 |       | O25:H-<br>n=4 |       | O25:H42<br>n=8 |       | O128:H7<br>n=2 |       |
|--------------------------------|---------------|-------|---------------|-------|----------------|-------|----------------|-------|
|                                | абс           | %     | абс           | %     | абс            | %     | абс            | %     |
| ампициллин                     | 12            | 85,7  | 3             | 75,0  | 8              | 100,0 | 1              | 50,0  |
| амоксициллин / клавуланат      | 12            | 85,7  | 4             | 100,0 | 8              | 100,0 | 1              | 50,0  |
| цефтазидим                     | 14            | 100,0 | 4             | 100,0 | 8              | 100,0 | 2              | 100,0 |
| цефотаксим                     | 14            | 100,0 | 4             | 100,0 | 8              | 100,0 | 2              | 100,0 |
| цефепим                        | 14            | 100,0 | 4             | 100,0 | 8              | 100,0 | 2              | 100,0 |
| меропенем                      | 14            | 100,0 | 4             | 100,0 | 8              | 100,0 | 2              | 100,0 |
| налидиксовая кислота           | 11            | 78,6  | 3             | 75,0  | 6              | 75,0  | 2              | 100,0 |
| ципрофлоксацин                 | 11            | 78,6  | 3             | 75,0  | 6              | 75,0  | 2              | 100,0 |
| гентамицин                     | 12            | 85,7  | 4             | 100,0 | 6              | 75,0  | 2              | 100,0 |
| амикацин                       | 14            | 100,0 | 4             | 100,0 | 8              | 100,0 | 2              | 100,0 |
| тетрациклин                    | 12            | 85,7  | 3             | 75,0  | 7              | 87,5  | 2              | 100,0 |
| хлорамфеникол                  | 14            | 100,0 | 4             | 100,0 | 8              | 100,0 | 2              | 100,0 |
| нитрофурантоин                 | 14            | 100,0 | 4             | 100,0 | 8              | 100,0 | 2              | 100,0 |
| сульфаниламид                  | 10            | 71,4  | 2             | 50,0  | 6              | 75,0  | 2              | 100,0 |
| триметоприм / сульфаметоксазол | 12            | 85,7  | 3             | 75,0  | 7              | 87,5  | 2              | 100,0 |

### 2.3 Характеристика энтероинвазивных штаммов *E. coli*

**Ферментативные свойства.** Коллекция ЕТЕС была представлена 27 неподвижными штаммами четырех серологических вариантов *E. coli* O29:H-,

O124:H-, O152:H- и O164:H-. Штаммы EIEC имели типичные ферментативные свойства характерные для этой патогруппы и в отличие от других патогрупп DEC относились к биохимически неактивному варианту *E. coli* (Таблица 8). Штаммы не ферментировали лактозу и сахарозу, не декарбоксилировали аминокислоты лизин, орнитин и аргинин.

**Продукция гемолизинов.** Штаммы EIEC (O29:H-, O124:H-, O152:H- и O164:H-) независимо от принадлежности к серологической группе не проявляли гемолизирующую активность: на питательном агаре с 5% бараньими эритроцитами ( $\alpha$  – гемолизин) и на 5% кровяном агаре с 10,0 М CaCl<sub>2</sub> (энтерогемолизин).

**Гены, кодирующие факторы вирулентности EIEC.** Генетические детерминанты вирулентности, кодирующие факторы патогенности, характерные для патогруппы EIEC представлены в таблице 17. Все штаммы *E. coli* O29:H-, O124:H-, O152:H- и O164:H- характеризовались наличием *ipaH* хромосомного гена, обеспечивающего основной фактор патогенности *Shigella* и EIEC. Штаммы O124:H- имели полный набор генов инвазивности (*ipaH*, *ial*, *invE*). Штаммы сероваров O29:H-, O152:H- и O164:H- различались по наличию плазмидных генов инвазивности: у *E. coli* O29:H- и *E. coli* O164:H- отсутствовал ген *ial*, у штаммов O152:H- отсутствовал *invE*.

Таблица 17 – Молекулярно-генетическая характеристика штаммов EIEC

| Гены        | <i>E. coli</i> O29:H-<br>n=4 | <i>E. coli</i> O124:H-<br>n=3 | <i>E. coli</i> O152:H-<br>n=9 | <i>E. coli</i> O164:H-<br>n=11 |
|-------------|------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|--------------------------------|
| <i>ipaH</i> | +                            | +                             | +                             | +                              |
| <i>Ial</i>  | -                            | +                             | +                             | -                              |
| <i>invE</i> | +                            | +                             | -                             | +                              |

Примечание: «+» - ген присутствует; «-» - ген отсутствует

**Чувствительность к АМП.** Характеристика чувствительности штаммов EIEC представлена в таблице 18. Чувствительными ко всем тестируемым препаратам были 77,8% штаммов. По суммарным данным, независимо от серогрупповой принадлежности, чувствительность сохранялась у 100% штаммов к ингибиторозащищенному аминопенициллину (амоксциллин / клавулановая

кислота), карбапенемам (меропенему), хлорамфениколу, нитрофурантоину и амикацину. К другим препаратам доля чувствительных штаммов составляла: более 90% к цефалоспорином III-IV поколения и триметоприм / сульфаметоксазолу (96,3%), к хинолонам / фторхинолонам (налидиксовая кислота / ципрофлоксацин) и сульфаниламиду (92,6%); более 85% к ампициллину и гентамицину (88,9%), тетрациклину (85,2%). Фенотип MDR не был выявлен ни у одного штамма.

Таблица 18 – Чувствительность EIEC к антимикробным препаратам

| Антимикробный препарат         | Всего n=27 |       | O29:H- n=4 |       | O124:H- n=3 |       | O152:H- n=9 |       | O164:H- n=11 |       |
|--------------------------------|------------|-------|------------|-------|-------------|-------|-------------|-------|--------------|-------|
|                                | абс        | %     | абс        | %     | абс         | %     | абс         | %     | абс          | %     |
| ампициллин                     | 24         | 88,9  | 4          | 100,0 | 3           | 100,0 | 6           | 66,7  | 11           | 100,0 |
| амоксиклав / клавуланат        | 27         | 100   | 4          | 100,0 | 3           | 100,0 | 9           | 100   | 11           | 100,0 |
| цефтазидим                     | 26         | 96,3  | 4          | 100,0 | 3           | 100,0 | 8           | 88,9  | 11           | 100,0 |
| цефотаксим                     | 26         | 96,3  | 4          | 100,0 | 3           | 100,0 | 8           | 88,9  | 11           | 100,0 |
| цефепим                        | 26         | 96,3  | 4          | 100,0 | 3           | 100,0 | 8           | 88,9  | 11           | 100,0 |
| меропенем                      | 27         | 100,0 | 4          | 100,0 | 3           | 100,0 | 9           | 100,0 | 11           | 100,0 |
| налидиксовая кислота           | 25         | 92,6  | 4          | 100,0 | 3           | 100,0 | 7           | 77,8  | 11           | 100,0 |
| ципрофлоксацин                 | 25         | 92,6  | 4          | 100,0 | 3           | 100,0 | 7           | 77,8  | 11           | 100,0 |
| гентамицин                     | 24         | 88,9  | 4          | 100,0 | 3           | 100,0 | 6           | 66,7  | 11           | 100,0 |
| амикацин                       | 27         | 100,0 | 4          | 100,0 | 3           | 100,0 | 9           | 100   | 11           | 100,0 |
| тетрацилин                     | 23         | 85,2  | 3          | 75,0  | 2           | 66,7  | 7           | 77,8  | 11           | 100,0 |
| хлорамфеникол                  | 27         | 100,0 | 4          | 100,0 | 3           | 100,0 | 9           | 100   | 11           | 100,0 |
| нитрофурантоин                 | 27         | 100,0 | 4          | 100,0 | 3           | 100,0 | 9           | 100   | 11           | 100,0 |
| сульфаниламид                  | 25         | 92,6  | 4          | 100,0 | 3           | 100,0 | 7           | 77,8  | 11           | 100,0 |
| триметоприм / сульфаметоксазол | 26         | 96,3  | 4          | 100,0 | 3           | 100,0 | 8           | 88,9  | 11           | 100,0 |

## 2.4 Характеристика шигатоксин-продуцирующих штаммов *E. coli*

**Ферментативные свойства.** Изучение ферментативных свойств 42 шигатоксин-продуцирующих штаммов *E. coli* пяти серологических групп и серологических вариантов O26:H11 (24 штамма), O55:H7 (два штамма), O111:H8 (семь штаммов), O145:H28 (один штамм) и O157:H7 (восемь штаммов) показало их принадлежность к биохимически активному варианту *E. coli*. Штаммы, принадлежащие к одному ферментативному варианту, характеризовались

идентичными биохимическими свойствами. В таблице 19 представлена ферментативная характеристика сероваров STEC.

Штаммы серовара O26:H11 ферментировали все изученные субстраты, принадлежали к биовару I.

Штаммы STEC O55:H7, так же как EPEC O55:H6, не ферментировали мальтозу и салицин, не декарбоксилировали орнитин и лизин, в отличие от штаммов EPEC не ферментировали рамнозу (Таблица 11 и 19).

Штаммы STEC O111:H8 не ферментировали сахарозу и дульцит, не декарбоксилировали орнитин и аргинин, в отличие от штаммов EPEC O111:H2 ферментировали мальтозу, рамнозу и салицин (Таблица 11 и 19).

Штамм EHEC O145:H28 ферментировал все углеводы и спирты, не декарбоксилировал аргинин. Штаммы O157:H7 (подвижные и неподвижные) по ферментативным свойствам были идентичны и характеризовались отличительной особенностью, свойственной штаммам этого серовара – не ферментировали сорбит и давали отрицательный результат в тесте с  $\beta$ -глюкуронидазой.

Таблица 19 – Основные ферментативные свойства штаммов STEC

| Серовар   | Газ на глюкозе | Лактоза | Маннит | Сахароза | Арабиноза | Мальтоза | Ксилоза | Рамноза | Дульцит | Сорбит | Салицин | Орнитин | Лизин | Аргинин | $\beta$ - глюкуронидаза |
|-----------|----------------|---------|--------|----------|-----------|----------|---------|---------|---------|--------|---------|---------|-------|---------|-------------------------|
| STEC      |                |         |        |          |           |          |         |         |         |        |         |         |       |         |                         |
| O26:H11   | +              | +       | +      | +        | +         | +        | +       | +       | +       | +      | +       | +       | +     | +       | +                       |
| O55:H7    | +              | +       | +      | +        | +         | -        | +       | -       | +       | +      | -       | -       | -     | +       | +                       |
| O111:H8   | +              | +       | +      | -        | +         | +        | +       | +       | -       | +      | +       | -       | +     | -       | +                       |
| EHEC      |                |         |        |          |           |          |         |         |         |        |         |         |       |         |                         |
| O145: H28 | +              | +       | +      | +        | +         | +        | +       | +       | +       | +      | +       | +       | +     | -       | +                       |
| O157:H7   | +              | +       | +      | +        | +         | -        | +       | +       | +       | -      | -       | +       | +     | -       | -                       |

Примечание: «+» - положительная реакция; «-» - отрицательная реакция

**Продукция гемолизинов.**  $\alpha$  - гемолизирующая активность на питательном агаре с 5% бараньими эритроцитами у штаммов STEC (O26:H11, O55:H7, O111:H8) и

ЕНЕС (O145:H28, O157:H7) не была выявлена. Продукция энтерогемолизина на 5% кровяном агаре с 10,0 М CaCl<sub>2</sub> была выявлена у штаммов STEC O26:H11, ЕНЕС O145:H28 и O157:H7 и отсутствовала у штаммов STEC O55:H7 и O111:H8.

**Продукция шигаподобных токсинов.** Иммунохроматографический экспресс-тест (ИХТ) «RIDA QUICK Verotoxin/O157 Combi» (Rbiopharm, Германия) у штаммов O26:H11, O55:H7, O111:H8, O145:H28, O157:H7 выявил продукцию шигаподобных токсинов (веротоксинов). ИХТ – «Duopath® Verotoxins» (Merck, Германия) у штаммов *E. coli* O26:H11, O55:H7, O111:H8 и трех штаммов O157:H7 выявил продукцию шигаподобных токсинов (веротоксинов) – Stx1; у *E. coli* O145:H28 и трех штаммов O157:H7 выявил продукцию Stx2; у двух штаммов O157:H7 – продукцию двух токсинов Stx1 + Stx2.

**Гены, кодирующие факторы вирулентности.** Проведена идентификация генетических маркеров, ассоциированных с патогруппой шигатоксин-продуцирующих *E. coli*: ген *eae*, кодирующий белок наружной мембраны – интимин, гены *stx1* (*stx1a*, *stx1d* *stx1c*) и *stx2* (*stx2a*, *stx2b*, *stx1c*, *stx2d*, *stx2e*, *stx2f*, *stx2g*), кодирующих продукцию Stx1 и Stx2 и их субтипы, ген *saa*, кодирующий аутоагглютинирующий адгезин STEC у *eae* – негативных *E. coli* и ген *ehxA*, ответственный за синтез энтерогемолизина. В таблице 20 представлены результаты изучения генов вирулентности.

Таблица 20 – Гены вирулентности штаммов шигатоксин продуцирующих *E. coli* \*

| Серологический вариант | Число штаммов | Ген вирулентности |            |              |              |             | Патогруппа/подгруппа |
|------------------------|---------------|-------------------|------------|--------------|--------------|-------------|----------------------|
|                        |               | <i>eae</i>        | <i>saa</i> | <i>stx1a</i> | <i>stx2a</i> | <i>ehxA</i> |                      |
| O26:H11                | 24            | -                 | -          | +            | -            | +           | STEC                 |
| O55:H7                 | 2             | -                 | +          | +            | -            | -           | STEC                 |
| O111:H8                | 7             | -                 | +          | +            | -            | -           | STEC                 |
| O145: H28              | 1             | +                 | +          | -            | +            | +           | ЕНЕС                 |
| O157:H7                | 3             | +                 | +          | +            | -            | +           | ЕНЕС                 |
| O157:H7                | 3             | +                 | +          | -            | +            | +           | ЕНЕС                 |
| O157:H7                | 2             | +                 | +          | +            | +            | +           | ЕНЕС                 |

Примечание: «+» - ген присутствует; «-» - ген отсутствует; \* - методом ПЦР

Установлено, что к патогруппе STEC (*stx* – положительные, *eae* – отрицательные) относились *E. coli* O26:H11, O55:H7 и O111:H8. В геномах

штаммов STEC были выявлены гены токсина *stx1* (субтипа *stx1a*), экспрессия которого была подтверждена в ИХТ. К подгруппе ЕНЕС (*stx* – положительные, *eae* – положительные) принадлежали штаммы *E. coli* O145:H28 и O157:H7 (подвижные и неподвижные). Ген *stx2* субтипа «а» (*stx2a*) был выявлен у трех штаммов *E. coli* O157:H7 и *E. coli* O145:H28, ген *stx1* субтипа «а» (*stx1a*) – у трех штаммов *E. coli* O157:H7. Два штамма *E. coli* O157:H7 характеризовались присутствием двух генов *stx1* (*stx1a*) и *stx2* (*stx2a*). Экспрессия токсинов Stx1 и Stx2 у штаммов ЕНЕС была подтверждена в ИХТ. Ген *saa* был обнаружен в штаммах *E. coli* O55:H7 и O111:H8. Штаммы *E. coli* O26:H11, O145:H28 и O157:H7, продуцирующие энтерогемолизин, имели ген *ehxA*, ответственный за его продукцию.

Так как штаммы STEC O26:H11 не имели гены адгезии (*eae* и *saa*) далее было проведено полногеномное секвенирование и анализ геномов с помощью платформы VirulenceFinder 1.5 (<https://cge.cbs.dtu.dk/services/VirulenceFinder/>) онлайн-ресурса «Center for Genomic Epidemiology». Результаты наличия основных и дополнительных генов представлены в таблицах 21, 22, 23.

Таблица 21 – Гены факторов вирулентности штамма STEC O26:H11 (№ 265)

| Ген вирулентности | Идентичность, % | Референт/образец, п.н. | Функция белка                                          | Референс-номер           |
|-------------------|-----------------|------------------------|--------------------------------------------------------|--------------------------|
| <i>cba</i>        | 96,71           | 943/1536               | Колицин В                                              | <a href="#">FJ664738</a> |
| <i>cif</i>        | 99,88           | 849/849                | Эффектор системы секреции III типа                     | <a href="#">AY128535</a> |
| <i>ehxA</i>       | 100             | 2997/2997              | Энтерогемолизин                                        | <a href="#">HM138194</a> |
| <i>espJ</i>       | 100             | 654/654                | Профак, кодирующий систему секреции III типа           | <a href="#">AB303060</a> |
| <i>espP</i>       | 100             | 3903/3903              | Сериновая протеаза                                     | <a href="#">GQ259888</a> |
| <i>gad</i>        | 99,92           | 1277/1401              | Глутамат декарбоксилаза                                | <a href="#">AP010953</a> |
| <i>iss</i>        | 100             | 294/294                | Устойчивость к бактерицидному действию сыворотки крови | <a href="#">CP001665</a> |
| <i>katP</i>       | 100             | 2211/2211              | Каталаза пероксидаза                                   | <a href="#">AB011549</a> |
| <i>nleA</i>       | 100             | 1323/1323              | Non-LEE кодируемый эффектор А                          | <a href="#">AM422003</a> |
| <i>nleC</i>       | 99,9            | 987/987                | Non-LEE кодируемый эффектор С                          | <a href="#">AP010953</a> |
| <i>stx1A</i>      | 99,89           | 948/948                | Шигатоксин 1, субъединица А, вариант «а»               | <a href="#">AF461168</a> |
| <i>stx1B</i>      | 100             | 270/270                | Шигатоксин 1, субъединица В, вариант «а»               | <a href="#">AM230663</a> |

Анализ генома штамма STEC O26:H11 (№ 265) показал наличие генов вирулентности с идентичностью 100-99,9% референтным образцам: ген *cif* (эффектор секреции III типа), ген *ehxA* (энтерогемолизин), ген *espJ* (профаг, кодирующий систему секреции III типа), ген *espP* (сериновая протеаза), ген *gad* (глутамат декарбоксилаза), ген *iss* (устойчивость к бактерицидному действию сыворотки крови), ген *katP* (каталаза пероксидаза), гены *nleA* и *nleC* (эффекторы А и С, кодируемые Non-LEE соответственно), гены *stx1A* и *stx1B* (шигатоксин 1 варианта «а» субъединицы А и В соответственно); с идентичностью 96,7% референтному образцу – ген *cba* (колицин В).

Анализ генома штамма STEC O26:H11 (№ 746) показал наличие генов вирулентности с идентичностью 100-99,9% референтным образцам: ген *cif* (эффектор секреции III типа), ген *ehxA* (энтерогемолизин), ген *espA* (система секреции III типа), *espB* (секретируемый белок В), ген *espJ* (профаг, кодирующий секрецию III типа), ген *gad* (глутамат декарбоксилаза), ген *iss* (устойчивость к бактерицидному действию сыворотки крови), ген *ipfA* (длинные полярные фимбрии), ген *nleC* (эффектор С кодируемый Non-LEE), гены *stx1A* и *stx1B* (шигатоксин 1 варианта «а» субъединицы А и В соответственно); с идентичностью 94,6% референтному образцу – ген *cba* (колицин В).

Таблица 22 – Гены факторов вирулентности штамма STEC O26:H11 (№ 746)

| Ген вирулентности | Идентичность, % | Референт/ образец, п.н. | Функция белка                                | Референс-номер           |
|-------------------|-----------------|-------------------------|----------------------------------------------|--------------------------|
| <i>cba</i>        | 94,59           | 943/1536                | Колицин В                                    | <a href="#">FJ664721</a> |
| <i>cif</i>        | 100             | 849/849                 | Эффектор системы секреции III типа           | <a href="#">AY128535</a> |
| <i>ehxA</i>       | 100             | 2997/2997               | Энтерогемолизин                              | <a href="#">HM138194</a> |
| <i>espA</i>       | 100             | 519/579                 | Система секреции III типа                    | <a href="#">FM201463</a> |
| <i>espB</i>       | 99,87           | 774/945                 | Секретируемый белок В                        | <a href="#">AF054421</a> |
| <i>espJ</i>       | 100             | 654/654                 | Профаг, кодирующий систему секреции III типа | <a href="#">AB303060</a> |
| <i>gad</i>        | 99,92           | 1277/1401               | Глутамат декарбоксилаза                      | <a href="#">AP010953</a> |
| <i>iss</i>        | 100             | 294/294                 | Повышенная устойчивость к сыворотке крови    | <a href="#">CP001665</a> |
| <i>ipfA</i>       | 100             | 573/573                 | Длинные полярные фимбрии                     | <a href="#">AP010953</a> |
| <i>nleC</i>       | 99,9            | 987/987                 | Non-LEE кодируемый эффекттор С               | <a href="#">AP010953</a> |
| <i>stx1A</i>      | 99,89           | 948/948                 | Шига-токсин 1, субъединица А, вариант «а»    | <a href="#">AF461168</a> |
| <i>stx1B</i>      | 100             | 270/270                 | Шига-токсин 1, субъединица В, вариант «а»    | <a href="#">AM230663</a> |



Анализ генома штамма STEC O26:H11 (№ 1007) показал наличие генов вирулентности с идентичностью 100-99,9% референтным образцам: ген *cif* (эффектор секреции III типа), ген *espI* (аутотранспортер сериновой протеазы энтеробактерий (SPATE)), ген *ehxA* (энтерогемолизин), ген *espJ* (профаг, кодирующий систему секреции III типа), ген *gad* (глутамат декарбоксилаза), ген *iss* (устойчивость к бактерицидному действию сыворотки крови), ген *katP* (каталаза пероксидаза), ген *ipfA* (длинные полярные фимбрии), ген *nleC* (эффектор C, кодируемый Non-LEE), гены *stx1A* и *stx1B* (шига-токсин 1 варианта «а» субъединицы А и В соответственно).

Таблица 23 – Гены факторов вирулентности штамма STEC O26:H11 (№ 1007)

| Ген вирулентности | Идентичность, % | Референт/образец, п.н. | Функция белка                                             | Референс-номер  |
|-------------------|-----------------|------------------------|-----------------------------------------------------------|-----------------|
| <i>cif</i>        | 99,88           | 849/849                | Эффектор системы секреции III типа                        | <u>AY128535</u> |
| <i>espI</i>       | 100             | 2655/4092              | Аутотранспортер сериновой протеазы энтеробактерий (SPATE) | <u>AP010958</u> |
| <i>ehxA</i>       | 100             | 2997/2997              | Энтерогемолизин                                           | <u>HM138194</u> |
| <i>espJ</i>       | 100             | 654/654                | Профаг, кодирующий систему секреции III типа              | <u>AB303060</u> |
| <i>gad</i>        | 99,92           | 1250/1401              | Глутамат декарбоксилаза                                   | <u>CP002185</u> |
| <i>iss</i>        | 100             | 294/294                | Повышенная устойчивость к сыворотке крови                 | <u>CP001665</u> |
| <i>katP</i>       | 100             | 2211/2211              | Каталаза пероксидаза                                      | <u>AB011549</u> |
| <i>ipfA</i>       | 100             | 573/573                | Длинные полярные фимбрии                                  | <u>AP010953</u> |
| <i>nleC</i>       | 99,9            | 987/987                | Non-LEE кодируемый эффекттор C                            | <u>AP010953</u> |
| <i>stx1A</i>      | 99,89           | 948/948                | Шига-токсин 1, субъединица А, вариант «а»                 | <u>AF461168</u> |
| <i>stx1B</i>      | 100             | 270/270                | Шига-токсин 1, субъединица В, вариант «а»                 | <u>AM230663</u> |

MLST – анализ трех штаммов STEC O26:H11 (№265, №745, №1007) с использованием сервиса MLST 2.0 – Multi-Locus Sequence Typing (<https://cge.cbs.dtu.dk/services/MLST/>) онлайн ресурса CGE показал принадлежность штаммов к одному сиквенс-типу ST 21 – широко распространенному в странах Европы, Японии и США.

**Чувствительность к АМП.** Характеристика штаммов STEC/ЕНЕС по чувствительности к АМП представлена в таблице 24. Чувствительными ко всем тестируемым препаратам по суммарным данным были 19 (45,2%) штаммов. Доля

чувствительных в популяции STEC составляла 57,6%, все штаммы были чувствительны к меропенему и амикацину в отличие от штаммов EHEC, которые были чувствительны ко всем тестируемым АМП. STEC сохраняли чувствительность к ампициллину 14 (42,4%), амоксициллин / клавуланату 27 (81,8%) штаммов. Доля чувствительных штаммов к цефалоспорином III-IV поколения (цефтазидиму, цефотаксиму, цефепиму) составляла 87,9%, 75,8%, 90,9% соответственно. К хинолонам / фторхинолонам (налидиксовой кислоте / ципрофлоксацину) чувствительными были 25 (75,8%) штаммов STEC. К гентамицину доля чувствительных штаммов составляла 90,9%. Чувствительность к сульфаниламиду, триметоприм / сульфаметоксазолу и тетрациклину была выявлена у 27 (81,8%) штаммов, к хлорамфениколу и нитрофурантоину доля чувствительных штаммов составляла 93,9% и 97,0% соответственно. Фенотип MDR был выявлен у 10 (30,3%) штаммов STEC (пять штаммов O26:H11 и пять штаммов O111:H8), у штаммов O55:H7 – MDR не выявлен. Фенотип XDR был выявлен у двух штаммов (O26:H11 и O111:H8).

Таблица 24 – Чувствительность STEC/EHEC к антимикробным препаратам

| Антимикробный препарат         | Всего<br>n=42 |       | STEC<br>n=33 |       | EHEC<br>n=9 |       |
|--------------------------------|---------------|-------|--------------|-------|-------------|-------|
|                                | абс           | %     | абс          | %     | абс         | %     |
| ампициллин                     | 23            | 54,8  | 14           | 42,4  | 9           | 100,0 |
| амоксициллин / клавуланат      | 36            | 85,7  | 27           | 81,8  | 9           | 100,0 |
| цефтазидим                     | 38            | 90,5  | 29           | 87,9  | 9           | 100,0 |
| цефотаксим                     | 34            | 81,0  | 25           | 75,8  | 9           | 100,0 |
| цефепим                        | 39            | 92,9  | 30           | 90,9  | 9           | 100,0 |
| меропенем                      | 42            | 100,0 | 0            | 100,0 | 9           | 100,0 |
| налидиксовая кислота           | 34            | 81,0  | 25           | 75,8  | 9           | 100,0 |
| ципрофлоксацин                 | 34            | 81,0  | 25           | 75,8  | 9           | 100,0 |
| гентамицин                     | 39            | 92,9  | 30           | 90,9  | 9           | 100,0 |
| амикацин                       | 42            | 100,0 | 0            | 100,0 | 9           | 100,0 |
| тетрациклин                    | 36            | 85,7  | 27           | 81,8  | 9           | 100,0 |
| хлорамфеникол                  | 40            | 95,2  | 31           | 93,9  | 9           | 100,0 |
| нитрофурантоин                 | 41            | 97,6  | 32           | 97,0  | 9           | 100,0 |
| сульфаниламид                  | 36            | 85,7  | 27           | 81,8  | 9           | 100,0 |
| триметоприм / сульфаметоксазол | 36            | 85,7  | 27           | 81,8  | 9           | 100,0 |

## 2.5 Характеристика энтероаггративных штаммов *E. coli*

Данный раздел работы посвящен изучению 74 штаммов EAgEC, из них 60 были выделены из испражнений пациентов с диарейным синдромом и 14 из мочи госпитализированных взрослых пациентов с ИМП.

Штаммы EAgEC типично росли на питательных средах, присутствовали в обследованных пациентов в количествах: от  $10^5$  до  $10^9$  КОЕ/в 1,0 грамме испражнений и от  $10^5$  до  $10^6$  КОЕ/в 1 мл мочи.

**Ферментативные свойства.** Детальное изучение 74 штаммов EAgEC показало вариабельность ферментативных свойств (Таблица 25). Все штаммы, независимо от биологического материала, из которого они были выделены, ферментировали глюкозу, маннит, мальтозу, рамнозу, сорбит, были положительными в тесте с  $\beta$ -галактозидазой, декарбоксилировали лизин и не декарбоксилировали аргинин. 71 (95,9%) штамм, включая 14, выделенных из мочи, ферментировали лактозу и относились к биохимически активному варианту *E. coli*. Три лактозонегативных штамма, выделенных из испражнений, относились к *E. coli* со сниженной ферментативной активностью, давали отрицательные реакции в отношении углеводов: сахарозы, арабинозы, ксилозы; спиртов: дульцита, салицина; аминокислот: орнитина.

Подвижными были 68 (91,9%) изученных штаммов EAgEC.

Идентифицировать O – антиген в реакции агглютинации с отечественными 44 O-сыворотками у штаммов EAgEC установить не удалось. Антигенная формула 24 штаммов установлена на основе анализа генома с помощью платформы SerotypeFinder 2.0 (<https://cge.cbs.dtu.dk/services/SerotypeFinder/>) онлайн-ресурса «Center for Genomic Epidemiology». Результаты представлены в таблице 28 в соответствующем разделе ниже.

**Продукция гемолизинов.** Продукция энтерогемолизина не была выявлена ни у одного из изученных штаммов EAgEC.  $\alpha$ -гемолизирующей активностью характеризовались 21 (35,0%) штамм, выделенных из испражнений, и девять (64,3%), выделенных из мочи. Остальные 64 штамма, включая шесть, выделенных из мочи, не обладали  $\alpha$ -гемолизирующей активностью.

Таблица 25 – Основные ферментативные свойства штаммов EAgEC

| Тест или субстрат | Положительная реакция у штаммов, выделенных из |      |           |             |      |           | Всего<br>(n=74) |      |           |
|-------------------|------------------------------------------------|------|-----------|-------------|------|-----------|-----------------|------|-----------|
|                   | испражнений (n=60)                             |      |           | мочи (n=14) |      |           |                 |      |           |
|                   | абс                                            | %    | 95% ДИ    | абс         | %    | 95% ДИ    | абс             | %    | 95% ДИ    |
| Газ на глюкозе    | 60                                             | 100  | 94,0-100  | 14          | 100  | 76,8-100  | 74              | 100  | 95,1-100  |
| Лактоза           | 57                                             | 95,0 | 86,1-99,0 | 14          | 100  | 76,8-100  | 71              | 95,9 | 88,6-99,2 |
| Маннит            | 60                                             | 100  | 94,0-100  | 14          | 100  | 76,8-100  | 74              | 100  | 95,1-100  |
| Сахароза          | 20                                             | 33   | 21,7-46,7 | 4           | 28,6 | 8,4-58,1  | 24              | 32,4 | 22,0-44,3 |
| Арабиноза         | 36                                             | 60   | 46,5-72,4 | 8           | 57,1 | 28,9-82,3 | 44              | 59,5 | 47,4-70,7 |
| Мальтоза          | 60                                             | 100  | 94,0-100  | 14          | 100  | 76,8-100  | 74              | 100  | 95,1-100  |
| Ксилоза           | 50                                             | 83   | 71,5-91,7 | 9           | 64,3 | 35,1-87,2 | 59              | 79,7 | 68,8-88,2 |
| Рамноза           | 60                                             | 100  | 94,0-100  | 14          | 100  | 76,8-100  | 74              | 100  | 95,1-100  |
| Дульцит           | 20                                             | 33   | 21,7-46,7 | 11          | 78,6 | 49,2-95,3 | 31              | 41,9 | 30,5-53,9 |
| Сорбит            | 60                                             | 100  | 94,0-100  | 14          | 100  | 76,8-100  | 74              | 100  | 95,1-100  |
| Салицин           | 22                                             | 36,7 | 24,6-50,1 | 4           | 28,6 | 8,4-58,1  | 26              | 35,1 | 24,4-47,1 |
| Орнитин           | 48                                             | 80   | 67,7-89,2 | 10          | 71,4 | 41,9-91,6 | 58              | 78,4 | 67,3-87,1 |
| Лизин             | 60                                             | 100  | 94,0-100  | 14          | 100  | 76,8-100  | 74              | 100  | 95,1-100  |
| Аргинин           | 0                                              | 0    | 0-6,0     | 0           | 0    | 0-23,2    | 0               | 0    | 0-4,9     |
| β-галактозидаза   | 60                                             | 100  | 94,0-100  | 14          | 100  | 76,8-100  | 74              | 100  | 95,1-100  |

### **Гены, кодирующие факторы патогенности *E. coli*.**

1. Детекция семи генов, ассоциированных с факторами вирулентности DEC патогруппы EAgEC: *aggR* – активатор транскрипции, необходимый для экспрессии фимбрий, *aafA* – агрегативно-адгезивные фимбрии, *aap* – секреторный белок дисперзин, *aatA* – эффлюксный белок, *pet* – плазмидокодируемый термолабильный токсин, *astA* – термостабильный токсин EAgEC (EAST), *aaiA* – активатор системы секреции IV типа.

Штаммы патогруппы EAgEC по наличию / отсутствию гена *aggR* делятся на типичные t-EAgEC<sub>*aggR*+</sub> (содержат ген *aggR*) и атипичные a-EAgEC<sub>*aggR*-</sub> (ген *aggR* отсутствует) [165, 195, 217]. Результаты молекулярного изучения генов вирулентности штаммов EAgEC представлены в таблице 26. К t-EAgEC<sub>*aggR*+</sub> (содержали ген *aggR*) статистически значимо чаще 53 (88,3%,  $p < 0,05$ ) относились штаммы, выделенные из испражнений пациентов с диарейным синдромом, по сравнению с a – EAgEC<sub>*aggR*-</sub> (ген *aggR* отсутствует). В штаммах, выделенных из мочи, статистически значимые различия между t-EAgEC<sub>*aggR*+</sub> и a-EAgEC<sub>*aggR*-</sub> не выявлены ( $p > 0,05$ ). Гены *aafA* и *aap*, кодирующие агрегативно-адгезивные фимбрии и секреторный белок дисперзин, без значимых различий ( $p > 0,05$ ) присутствовали в штаммах, выделенных из испражнений и мочи. Гены *aatA* и *aaiA*, кодирующие эффлюксный белок и активатор системы секреции IV типа, были выявлены только в копроизолатах, их находки составляли 29 (48,3%) и 8 (13,3%) соответственно. Ген *pet*, ответственный за продукцию термолабильного токсина во всех изучаемых штаммах EAgEC, обнаружен не был.

2. Детекция семи генов ассоциированных с факторами вирулентности ExPEC (UPEC): *rar* (пиелонефрит-ассоциированные пили), *sfa* (S-фимбрии), *afa* (афимбриальные адгезины), *kpsMT II* (синтез капсульных полисахаридных антигенов K1, K5 и K12), *iutA* (рецептор аэробактина), *hlyA* (гемолизин) и *cnf* (цитонекротический фактор) [170, 323].

У 15 (25%) штаммов, выделенных из испражнений, не были выявлены гены, ассоциированные с ExPEC. Остальные 59 (75%) штаммов, включая 14, выделенных из мочи, имели генетические маркеры ExPEC. Кодирующие

Таблица 26 – Молекулярно-генетическая характеристика штаммов EAgEC

| Гены<br>вирулент-<br>ности | Выделенные из      |      |           |             |      |           | Всего EAgEC (n=74) |      |           |
|----------------------------|--------------------|------|-----------|-------------|------|-----------|--------------------|------|-----------|
|                            | испражнений (n=60) |      |           | мочи (n=14) |      |           |                    |      |           |
|                            | абс                | %    | 95% ДИ    | абс         | %    | 95%ДИ     | абс                | %    | 95%ДИ     |
| EAgEC                      |                    |      |           |             |      |           |                    |      |           |
| <i>aggR</i>                | 53                 | 88,3 | 77,4-95,2 | 9           | 64,3 | 35,1-87,2 | 62                 | 83,8 | 73,4-91,3 |
| <i>aafA</i>                | 52                 | 86,7 | 75,4-94,1 | 8           | 57,1 | 28,9-82,3 | 60                 | 81,1 | 70,3-89,3 |
| <i>aap</i>                 | 39                 | 65,0 | 51,6-76,9 | 8           | 57,1 | 28,9-82,3 | 47                 | 63,5 | 51,5-74,4 |
| <i>aatA</i>                | 29                 | 48,3 | 35,2-61,6 | 0           | 0    | 0-23,2    | 29                 | 39,2 | 28,0-51,2 |
| <i>astA</i>                | 19                 | 31,7 | 20,3-45,0 | 4           | 28,6 | 8,4-58,1  | 23                 | 31,1 | 20,8-42,9 |
| <i>aaiA</i>                | 8                  | 13,3 | 5,9-24,6  | 0           | 0    | 0-23,2    | 8                  | 10,8 | 4,8-20,2  |
| ExPEC                      |                    |      |           |             |      |           |                    |      |           |
| <i>pap</i>                 | 15                 | 25,0 | 14,7-37,9 | 9           | 64,3 | 35,1-87,2 | 24                 | 32,4 | 22,0-44,3 |
| <i>sfa</i>                 | 4                  | 6,7  | 1,9-16,2  | 14          | 100  | 76,8-100  | 18                 | 24,3 | 15,1-35,7 |
| <i>afa</i>                 | 2                  | 3,3  | 0,4-11,5  | 2           | 14,3 | 1,8-42,8  | 4                  | 5,4  | 1,5-13,3  |
| <i>kpsMT II</i>            | 4                  | 6,7  | 1,9-16,2  | 3           | 21,4 | 4,7-50,8  | 7                  | 9,5  | 3,9-18,5  |
| <i>iutA</i>                | 9                  | 15,0 | 7,1-26,6  | 12          | 85,7 | 57,2-98,2 | 21                 | 28,4 | 18,5-40,1 |
| <i>hlyA</i>                | 21                 | 35,0 | 23,1-48,4 | 9           | 64,3 | 35,1-87,2 | 30                 | 40,5 | 29,3-52,6 |
| <i>cnf</i>                 | 5                  | 8,3  | 2,8-18,4  | 5           | 35,7 | 12,8-64,9 | 10                 | 13,5 | 6,7-23,5  |

пиелонефрит-ассоциированные пили (*pap*), афимбриальные адгезины (*afa*), синтез капсулы (*kpsMT II*),  $\alpha$ -гемолизин (*hlyA*) и цитонекротический фактор (*cnf*) гены без значимых различий присутствовали в штаммах, выделенных из испражнений и мочи ( $p > 0,05$ ). Статистически значимо ( $p \leq 0,05$ ) в штаммах EAgEC, выделенных из мочи, присутствовали два гена *iutA* (85,7%) и *sfa* (100%), ответственных за синтез аэробактина и S-фимбрий, по сравнению с копроизолятами (15,0% и 6,7% соответственно).

По суммарным данным в 74 штаммах EAgEC присутствовали от одного (*aaf*) до шести генов вирулентности DEC. В таблице 27 представлены индивидуальные генотипы вирулентности t-EAgEC и a-EAgEC, выделенных из различных биологических материалов. По сочетанию генов, кодирующих факторы вирулентности, популяция штаммов EAgEC (t-EAgEC + a-EAgEC) характеризовалась 15 генетическими профилями, все из которых встречались в штаммах, выделенных из испражнений пациентов с ОКИ. Штаммы, выделенные из мочи, были представлены шестью генотипами вирулентности. Гетерогенность

Таблица 27 – Распределение генов вирулентности в штаммах EAgEC, выделенных из различных биоматериалов

| Гены вирулентности                  | Выделенные из    |           |          |           | P     |
|-------------------------------------|------------------|-----------|----------|-----------|-------|
|                                     | испражнений (60) |           | мочи 14  |           |       |
|                                     | абс (%)          | 95% ДИ    | абс (%)  | 95% ДИ    |       |
| t-EAgEC                             |                  |           |          |           |       |
| 2 гена вирулентности                | 14 (23,3)        | 13,4-36,0 | 6 (42,9) | 17,7-71,1 | >0,05 |
| <i>aggR+astA</i>                    | 2 (3,3)          | 0,4-11,5  | 2 (14,3) | 1,8-42,8  | >0,05 |
| <i>aggR+aafA</i>                    | 5 (8,3)          | 2,8-18,4  | 0 (0)    | 0-23,2    | >0,05 |
| <i>aggR+aap</i>                     | 7 (11,7)         | 4,8-22,6  | 4 (28,6) | 8,4-58,1  | >0,05 |
| 3 гена вирулентности                | 14 (23,3)        | 13,4-36,0 | 3 (21,4) | 4,7-50,8  | >0,05 |
| <i>aggR+aafA+astA</i>               | 5 (8,3)          | 2,8-18,4  | 0 (0)    | 0-23,2    | >0,05 |
| <i>aggR+aafA+aap</i>                | 6 (10,0)         | 3,8-20,5  | 3 (21,4) | 4,7-50,8  | >0,05 |
| <i>aggR+aafA+aat</i>                | 3 (5,0)          | 1,0-13,9  | 0 (0)    | 0-23,2    | >0,05 |
| 4 гена вирулентности                | 15 (25,0)        | 14,7-37,9 | 0 (0)    | 0-23,2    | >0,05 |
| <i>aggR+aafA+aap+aatA</i>           | 15 (25,0)        | 14,7-37,9 | 0 (0)    | 0-23,2    | >0,05 |
| 5 генов вирулентности               | 5 (8,3)          | 2,8-18,4  | 0 (0)    | 0-23,2    | >0,05 |
| <i>aggR+aafA+aap+aatA+aaiA</i>      | 1 (1,7)          | 0-8,9     | 0 (0)    | 0-23,2    | >0,05 |
| <i>aggR+aafA+aap+aatA+astA</i>      | 2 (3,3)          | 0,4-11,5  | 0 (0)    | 0-23,2    | >0,05 |
| <i>aggR+aafA+aap+astA+aaiA</i>      | 2 (3,3)          | 0,4-11,5  | 0 (0)    | 0-23,2    | >0,05 |
| 6 генов вирулентности               | 5 (8,3)          | 2,8-18,4  | 0 (0)    | 0-23,2    | >0,05 |
| <i>aggR+aafA+aap+aatA+astA+aaiA</i> | 5 (8,3)          | 2,8-18,4  | 0 (0)    | 0-23,2    | >0,05 |
| a-EAgEC                             |                  |           |          |           |       |
| 1 ген вирулентности                 | 2 (3,3)          | 0,4-11,5  | 1 (7,1)  | 0,2-33,9  | >0,05 |
| <i>aafA</i>                         | 2 (3,3)          | 0,4-11,5  | 1 (7,1)  | 0,2-33,9  | >0,05 |
| 2 гена вирулентности                | 4 (6,7)          | 1,9-16,2  | 4 (28,6) | 8,4-58,1  | >0,05 |
| <i>aafA+astA</i>                    | 3 (5,0)          | 1,0-13,9  | 3 (21,4) | 4,7-50,8  | >0,05 |
| <i>aafA+aatA</i>                    | 1 (1,7)          | 0-8,9     | 1 (7,1)  | 0,2-33,9  | >0,05 |
| 4 гена вирулентности                | 1 (1,7)          | 0-8,9     | 0 (0)    | 0-23,2    | >0,05 |
| <i>aafA+aap+astA+aaiA</i>           | 1 (1,7)          | 0-8,9     | 0 (0)    | 0-23,2    | >0,05 |

профилей вирулентности была более выражена среди штаммов t-EAgEC (11 генотипов) по сравнению с a-EAgEC (4 генотипа).

Копроизолиты t-EAgEC практически в равных долях содержали по два – четыре гена вирулентности. Штаммы, содержащие два и три гена, были представлены тремя генетическими профилями, из которых «*aggR+aap*» и «*aggR+aafA+aap*» были лидирующими. Штаммы, содержащие четыре гена вирулентности, были представлены одним генотипом «*aggR+aafA+aap+aatA*», который был выявлен у штаммов, выделенных из испражнений. У пяти штаммов были выявлены три комбинации из пяти генов вирулентности. Пять копроизолитов характеризовались одним генетическим профилем,

представленным шестью генами вирулентности.

Среди t-EAgEC, выделенных из мочи пациентов с ИМП, чаще встречались штаммы с двумя генами, кодирующими факторы вирулентности EAgEC (42,9%), и были представлены двумя генетическими профилями, из которых чаще, так же, как и среди копроизютов был «*aggR+aap*» (28,6%). Единственным генотипом, представленным комбинаций трех генов, был «*aggR+aafA+aap*».

Семь штаммов a-EAgEC, выделенных из испражнений, были представлены четырьмя генетическими профилями вирулентности и характеризовались присутствием от одного (*aafA*) до четырех (*aafA+aap+astA+aaiA*) генов. У пяти штаммов a-EAgEC, выделенных из мочи, были выявлены три профиля вирулентности. Штаммы, характеризовались присутствием от одного (*aafA*) до двух генов вирулентности. Три из пяти штаммов имели гены «*aafA+astA*».

**Антигенная характеристика штаммов EAgEC.** Анализ геномов 24 штаммов EAgEC с помощью платформы SerotypeFinder 2.0 ([https://cge.cbs.dtu.dk/services/SerotypeFinder /](https://cge.cbs.dtu.dk/services/SerotypeFinder/)) онлайн-ресурса «Center for Genomic Epidemiology» показал, что штаммы по идентичности нуклеотидных последовательностей генов, кодирующих синтез О- и Н-антигенов, принадлежали к десяти О – серогруппам и 13 сероварам. Результаты представлены в таблице 28.

Таблица 28 – Антигенная характеристика штаммов EAgEC

| Гены, кодирующие О-антиген ( <i>rfb</i> ) | Гены, кодирующие Н- антиген ( <i>fliC</i> ) | Антигенная формула | Количество штаммов |
|-------------------------------------------|---------------------------------------------|--------------------|--------------------|
| O3                                        | H2                                          | O3:H2              | 3                  |
| O11                                       | H2                                          | O11:H10            | 1                  |
| O16                                       | H48                                         | O16:H48            | 1                  |
| O51                                       | H30                                         | O51:H30            | 6                  |
| O55                                       | H21                                         | O55:H21            | 1                  |
| O73                                       | H18                                         | O73:H18            | 1                  |
| O73                                       | H33                                         | O73:H33            | 1                  |
| O86                                       | H2                                          | O86:H2             | 2                  |
| O86                                       | H10                                         | O86:H10            | 1                  |
| O92                                       | H33                                         | O92:H33            | 3                  |
| O140                                      | H2                                          | O140:H2            | 1                  |
| O159                                      | H10                                         | O159:H10           | 1                  |
| ONF*                                      | H42                                         | O?:H42             | 2                  |

Примечание: \*NF- no hit found (О-антиген не определен)



Два штамма имели уникальные нуклеотидные последовательности генов, кодирующих О-антигены, которые отличались от 188 известных О-антигенов, поэтому по наличию гена *fliC* H42 их антигенная формула выражалась как O<sub>NT</sub>:H42. Невозможность установить О – группу у значительной части штаммов EA<sub>g</sub>EC были описаны и другими исследователями [127, 196, 216], вероятно, эти штаммы, представляют собой новые серогруппы патогенных *E. coli*.

В международном банке данных GenBank депонирована полная последовательность генома штамма EA<sub>g</sub>EC, выделенного от пациента с диарейным синдромом, содержащего 610 нуклеотидных последовательностей – номера доступа GenBank WAGY00000000.1 – WAGY00000610.1. Штамм по результатам SerotypeFinder принадлежал к серологическому варианту O92:H33. Анализ генома на платформе VirulenceFinder 1.5 (<https://cge.cbs.dtu.dk/services/VirulenceFinder/>) показал, что штамм принадлежит к гибричному варианту, имеет гены типичных EA<sub>g</sub>EC – возбудителей диарейных заболеваний (*aaiC*, *aap*, *aatA*, *aaf*, *aggR*, *capU*, *pic*) и уропатогенных *E. coli* (*fyuA*, *iss*, *sat*, *fimH*, *hlyA*) (Таблица 29).

Таблица 29 – Гены факторов вирулентности гибридного штамма *E. coli* O92:H33, выделенного из проб испражнений у пациента с диарейным синдромом

| Ген                    | Идентичность % | Референт/ образец, п.н. | Функция белка                                                 | Референс-номер |
|------------------------|----------------|-------------------------|---------------------------------------------------------------|----------------|
| DEC/EA <sub>g</sub> EC |                |                         |                                                               |                |
| <i>aaiC</i>            | 99,61          | 507/507                 | VI тип секреции                                               | FN554766       |
| <i>aap</i>             | 100            | 351/351                 | Антиагрегационный белок, дисперзин                            | Z32523         |
| <i>aatA</i>            | 99,68          | 1239/1239               | Транспортер дисперзина                                        | CU928159       |
| <i>aaf</i>             | 99,8           | 504/504                 | Аггегативно – адгезивные фимбрии                              | SSIAA788       |
| <i>aggR</i>            | 99,87          | 799/798                 | Активатор транскрипции                                        | 55989          |
| <i>capU</i>            | 100            | 1089/1089               | Гомолог гексозилтрансферазы                                   | CU928145       |
| <i>pic</i>             | 100            | 4119/4119               | Аутопортранспортер сериновой протеазы                         | AB011549       |
| ExPEC/UPEC             |                |                         |                                                               |                |
| <i>fyuA</i>            | 100            | 2022/2022               | Рецептор сидерофора, иерсинебактин                            | ANAX01000032   |
| <i>iss</i>             | 99,32          | 294/294                 | Устойчивость к бактерицидному действию сыворотки крови        | CP001509       |
| <i>sat</i>             | 99,38          | 3888/3888               | Секретируемый токсин-транспортёр уропатогенных <i>E. coli</i> | JX050263       |
| <i>fimH</i>            | 100            | 335/335                 | Маннозочувствительные фимбрии FimH                            | CP003289       |
| <i>hlyA</i>            | 99,9           | 303/303                 | α-гемолизин                                                   | AP010953       |

**Чувствительность к АМП.** По суммарным данным чувствительными ко всем тестируемым АМП были 8 (10,8 %) штаммов EAgEC. Доля чувствительных, выделенных из испражнений, составляла 13,3%, среди штаммов, выделенных из мочи, чувствительных ко всем тестируемым препаратам выявлено не было. У всех штаммов отмечена 100% чувствительность к меропенему и амикацину. Результаты определения чувствительности представлены в таблице 30.

Таблица 30 – Чувствительность к антимикробным препаратам штаммов EAgEC, выделенных из различных биоматериалов

| Антимикробный препарат            | Всего<br>n=74 |      | Испражнения<br>n=60 |           | Моча<br>n=14 |           |
|-----------------------------------|---------------|------|---------------------|-----------|--------------|-----------|
|                                   | абс           | %    | абс (%)             | 95% ДИ    | абс (%)      | 95% ДИ    |
| ампициллин                        | 9             | 12,2 | 9 (15,0)            | 7,1-26,6  | 0 (0,0)      | 0,0-23,2  |
| амоксиклав /<br>клавуланат        | 31            | 41,9 | 31(51,7)            | 38,4-64,8 | 0 (0,0)      | 0,0-23,2  |
| цефтазидим                        | 28            | 37,8 | 28 (46,7)           | 33,7-60,0 | 0 (0,0)      | 0,0-23,2  |
| цефотаксим                        | 29            | 39,2 | 29 (48,3)           | 35,2-61,6 | 0 (0,0)      | 0,0-23,2  |
| цефепим                           | 31            | 41,9 | 31(51,7)            | 38,4-64,8 | 0 (0,0)      | 0,0-23,2  |
| меропенем                         | 74            | 100  | 60 (100)            | 94,0-100  | 14(100)      | 76,8-100  |
| налидиксовая<br>кислота           | 49            | 66,2 | 41(68,3)            | 55,0-79,7 | 8 (57,1)     | 28,9-82,3 |
| ципрофлоксацин                    | 64            | 86,5 | 52 (86,7)           | 75,4-94,1 | 12 (85,7)    | 57,2-98,2 |
| гентамицин                        | 49            | 66,2 | 44 (73,3)           | 60,3-83,9 | 5 (35,7)     | 12,8-64,9 |
| амикацин                          | 74            | 100  | 60 (100)            | 94,0-100  | 14 (100)     | 76,8-100  |
| тетрациклин                       | 21            | 28,4 | 20 (33,3)           | 21,7-46,7 | 1 (7,1)      | 0,2-33,9  |
| хлорамфеникол                     | 34            | 45,9 | 32 (53,3)           | 40,0-66,3 | 2 (14,3)     | 1,8-42,8  |
| нитрофурантоин                    | 73            | 98,6 | 59 (98,3)           | 91,1-99,7 | 14 (100)     | 76,8-100  |
| сульфаниламид                     | 55            | 74,3 | 28 (46,7)           | 33,7-60,0 | 14 (100)     | 76,8-100  |
| триметоприм /<br>сульфаметоксазол | 28            | 37,8 | 14 (23,3)           | 13,4-36,0 | 14(100)      | 76,8-100  |

К  $\beta$ -лактамным АМП чувствительность сохранялась только у копроизолятов и составляла: к ампициллину – 15,0%, амоксициллин / клавуланату – 51,7%, цефалоспорином III-IV поколения (цефтазидиму, цефотаксиму, цефепиму) – 46,7%, 48,3% и 51,7% соответственно. Доля чувствительных штаммов к группе хинолонов / фторхинолонов по суммарным данным составляла 66,2% / 86,5%, такая же тенденция сохранялась среди штаммов сравниваемых групп. К гентамицину чувствительными были 73,3% штамма, выделенных из

испражнений, и 35,7% штаммов, выделенных из мочи. Без значимых различий ( $p > 0,05$ ) чувствительность к тетрациклину, хлормфениколу и нитрофурантоину была выявлена у 33,3%, 53,3%, 98,3% копроизюатов EAgEC и 7,1%, 14,3% и 100% штаммов, выделенных из проб мочи. Значимо чаще ( $p < 0,05$ ) чувствительные штаммы EAgEC к препаратам группы сульфаниамидов и триметоприма были выявлены из мочи (100%) по сравнению с выделенными из испражнений (46,7% и 23,3%). Фенотипом MDR характеризовались 49 (66,2%) изученных штаммов EAgEC. Доля MDR штаммов, выделенных из испражнений, составляла 58,3%, из мочи – 100%. Фенотип XDR был выявлен у 16 (32,7%) штаммов, из них 28,6% копроизюатов и 14,3%, выделенных из мочи.

**Заключение по главе.** Использование молекулярных методов позволило установить циркуляцию штаммов всех патогрупп диареегенных *E. coli*. Антигенная и генетическая неоднородность по факторам вирулентности штаммов *E. coli* – возбудителей острых кишечных инфекций проявляется как в целом в популяции DEC, так и в отдельных патогруппах. Традиционный культуральный метод, основанный на морфологических, биохимических и серологических свойствах *E. coli*, характеризует внутривидовую фенотипическую неоднородность выделенного штамма. Этиологическую значимость при ОКИ выделенного штамма *E. coli* можно определить только при применении комплекса культуральных и молекулярных методов.

Использование молекулярных методов позволило выявить штаммы, принадлежащие к успешным международным клонам *E. coli* O26:H11 ST21, которые относят к заболеваниям общих для человека и животных.

В результате проведенного изучения EAgEC установлено, что у 75% штаммов, выделенных из испражнений пациентов с диарейным синдромом, выявлены гены вирулентности ExPEC, что имеет важное прогностическое значение развития ИМП.

### ГЛАВА 3 ХАРАКТЕРИСТИКА БИОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ШТАММОВ *ESCHERICHIA COLI* – ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ЗАБОЛЕВАНИЙ ВНЕКИШЕЧНОЙ ЛОКАЛИЗАЦИИ

В данной главе представлены результаты изучения 301 штамма *E. coli*, выделенных из различных биологических материалов госпитализированных пациентов в семь стационаров Санкт-Петербурга (201 штамм): кровь (n=5), моча (n=94), раневое отделяемое (n=25), мокрота (n=12), перитонеальная жидкость (n=65), и 100 штаммов *E. coli*, выделенных из мочи пациентов, проходивших амбулаторное лечение. Все пациенты были обследованы по клиническим показаниям (ИМП, бактериемия / сепсис, пневмония, инфекция в области хирургического вмешательства (ИОХВ), острый флегмонозный аппендицит).

#### 3.1. Гены, кодирующие факторы вирулентности ExPEC

Штаммы были тестированы на наличие 17 генов, кодирующих синтез факторов вирулентности ExPEC: адгезинов (*par*, *fimH*, *sfa*, *focG* и *afa*), токсинов (*hlyA*, *cvaC*, *cnf* и *cdtB*), капсульных антигенов (*kpsMTII*, *kpsMTIII*, *kpsMT KI*), сидерофоров (гены *fyuA* и *iutA*), инвазинов (*ibeA*), а также на присутствие генетических маркеров острова патогенности (PAI) UPEC CFT073 и гена (*traT*), кодирующего фактор резистентности к бактерицидному действию сыворотки.

Распространенность генов, кодирующих синтез факторов вирулентности ExPEC, в штаммах, выделенных из различных биоматериалов, по суммарным данным колебалась от 1,3 % (*ibeA*) до 93,4% (*fimH*). Ген, ответственный за продукцию цитолетального расширяющего токсина (*cdtB*), участвующего в подавлении пролиферации клеток с последующей их гибелью, ни у одного штамма не был выявлен. Частота встречаемости генетических детерминант, кодирующих факторы вирулентности ExPEC, представлена на рисунке 4.

Анализ детекции генов, ассоциированных с адгезией, показал, что практически все штаммы содержали ген *fimH* (93,4%), кодирующий маннозочувствительные фимбрии I типа. Ген *par*, кодирующий синтез пиелонефрит-ассоциированных пилей, встречался у каждого третьего штамма

(30,6%), ген *afa*, кодирующий афимбриальные адгезины, был выявлен у 9,0% штаммов, гены, кодирующие фимбриальные адгезины *sfa* и *focG*, были выявлены у 6,6% и 2,0% штаммов соответственно.

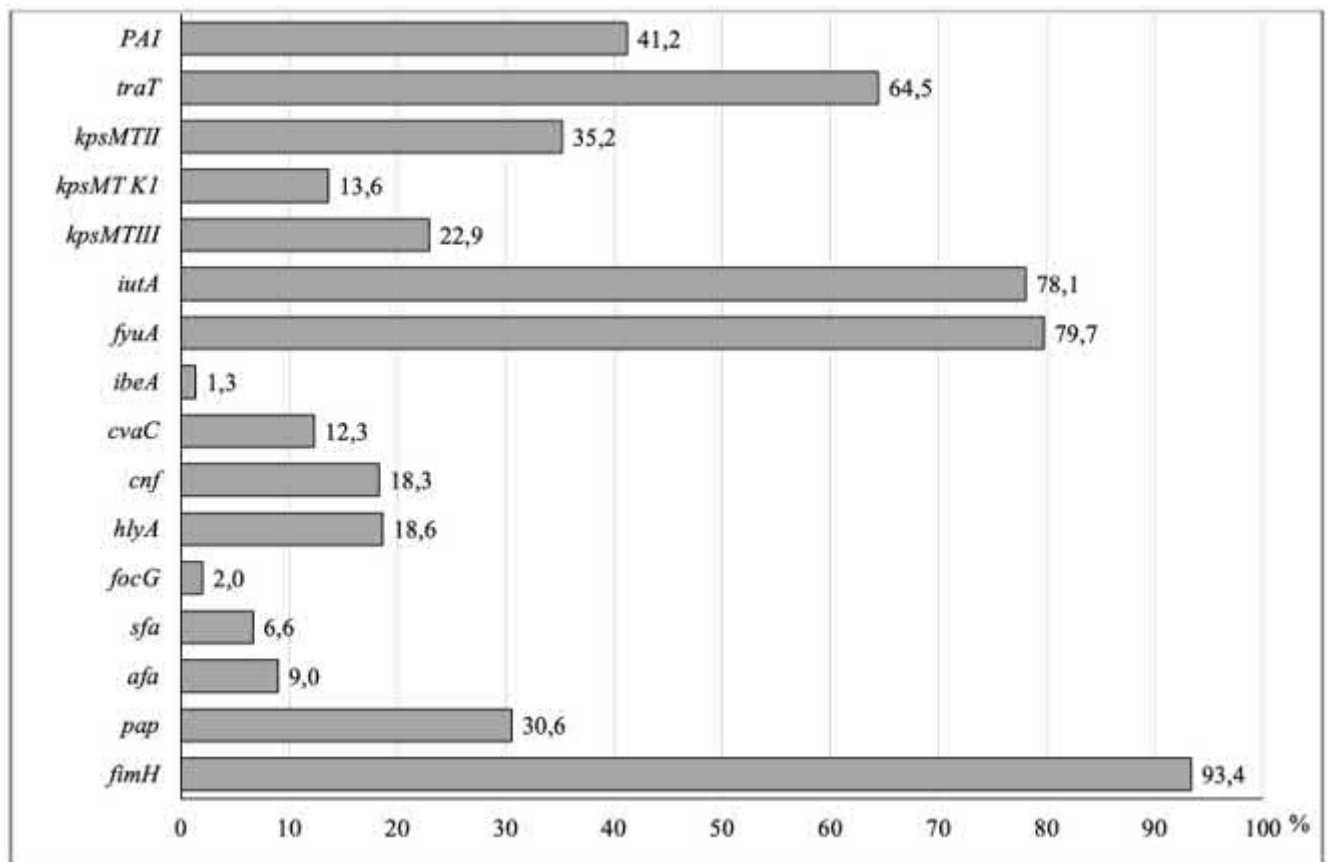


Рисунок 4 – Распространенность генов, кодирующих факторы вирулентности ExPEC

Гены *hlyA* и *cnf*, кодирующие синтез токсинов ( $\alpha$ -гемолизина и цитонекротического фактора), были выявлены у 18,6% и 18,3% штаммов соответственно. Ген *cvaC*, ответственный за продукцию колицина V, был обнаружен у 12,3% изученных штаммов.

Ответственный за инвазию эндотелиальных клеток ген *ibeA* был обнаружен у четырех (1,3%) штаммов *E. coli*.

Частота встречаемости генетических детерминант, кодирующих синтез сидерофоров: иерсинебактина (*fyuA*) и аэробактина (*iutA*), составляла 79,7% и 78,1% соответственно. Гены, кодирующие синтез капсульных антигенов, по суммарным данным были выявлены у 71,6% изученных штаммов: ген *kpsMTII*, ответственный за синтез K1, K5 и K12 антигенов, был выявлен у 35,2% штаммов, ген *kpsMTIII*, ответственный за синтез K3, K10 и K54 антигенов, присутствовал у

22,9% штаммов, «типоспецифический» ген *kpsMT K1*, кодирующий капсульный антиген K1, был обнаружен у 13,6% штаммов соответственно.

Кодирующий фактор устойчивости бактериальной клетки к бактерицидному действию сыворотки крови, ген *traT* был выявлен у 64,5% штаммов. У 41,2% штаммов были выявлены генетические маркеры острова патогенности (PAI) – UPEC CFT073.

Генетические детерминанты вирулентности ExPEC в изученных штаммах присутствовали в сочетаниях и изолировано. В геномах 1,7% (95% ДИ 0,5-3,8%) штаммов было выявлено по одному гену вирулентности (Рисунок 5). Остальные 98,3% (95% ДИ 96,2-99,5%) штаммов, характеризовались наличием комбинаций генов, из них: 3,6% (95% ДИ 1,8-6,4%) штаммов – сочетанием двух генетических детерминант, 8,6% (95% ДИ 5,7-12,4) – трех. Статистически значимо чаще ( $p < 0,05$ ) встречались штаммы, содержащие комбинации из четырех генов – 17,2% (95% ДИ 13,2-22,0%), пяти – 23,2% (95% ДИ 18,6-28,5%), шести – 23,5% (95% ДИ 18,9-28,8%) и семи генов – 15,6% (95% ДИ 11,7-20,2%) соответственно. Восемь маркеров вирулентности были выявлены у 4,3% (95% ДИ 2,3-7,3%), девять у 2,0%

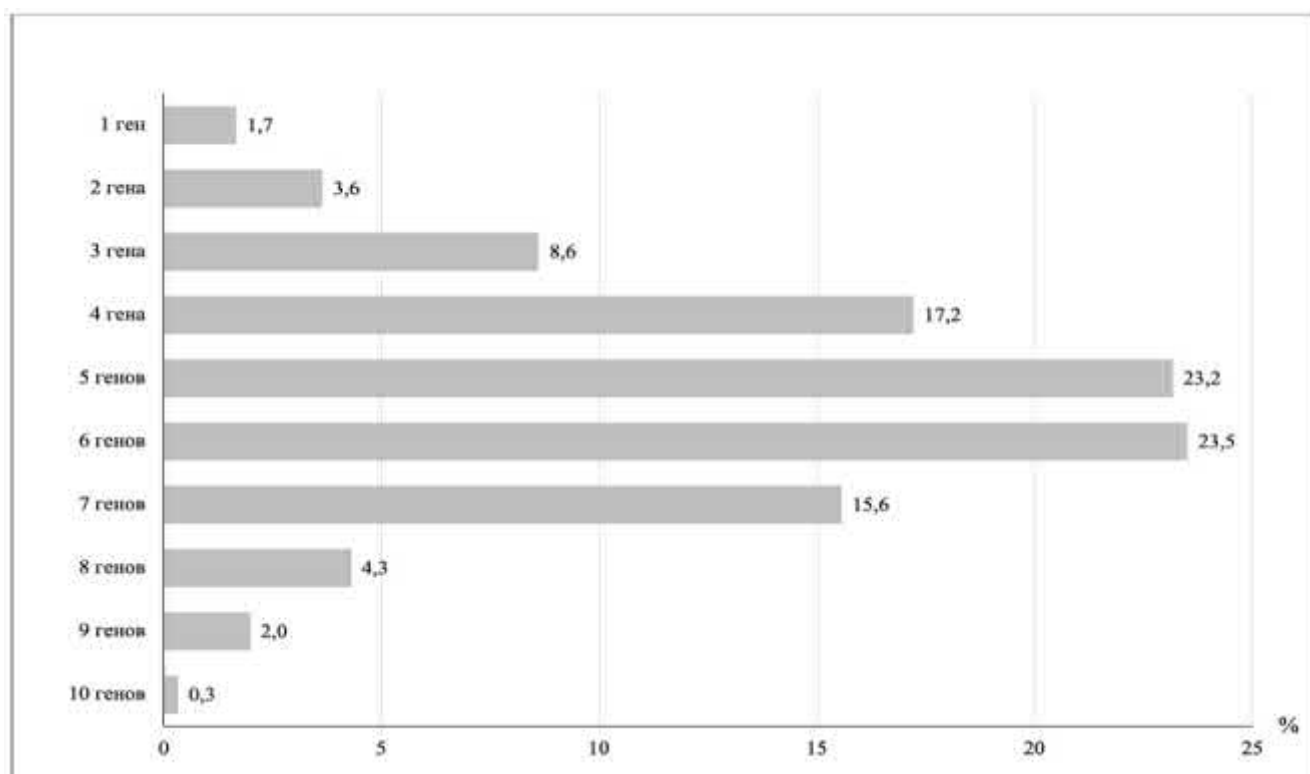


Рисунок 5 – Количественное распределение генов вирулентности ExPEC

(95% ДИ 0,7-4,3%) штаммов соответственно. Геном одного штамма (0,3%, 95% ДИ 0,0-1,8%) был представлен индивидуальным профилем и характеризовался комбинацией 10 генов. Анализ наличия патогенетически значимых для ExPEC генетических детерминант показал, что гены, ассоциированные с адгезией, были выявлены у 289 (96,0%) штаммов; синтезом сидерофоров и капсулы у 276 (91,7%) и 167 (55,5%) штаммов; продукции токсинов у 109 (36,2%) штаммов соответственно. В таблице 31 представлена характеристика штаммов по частоте присутствия факторов патогенности ExPEC. В зависимости от наличия генетических детерминант, кодирующих факторы вирулентности, было выявлено 32 кластера патогенности. В геномах пяти штаммов были выявлены генетические детерминанты, кодирующие один фактор патогенности (1,7%, 95% ДИ 0,5-3,8%). У остальных 296 штаммов (98,3%, 95% ДИ 96,2-99,5%) патогенный потенциал проявлялся наличием сочетаний факторов патогенности, из них значимо чаще ( $p < 0,05$ ) встречались штаммы, содержащие комбинации четырех факторов патогенности ExPEC – 118 (39,2%, 95% ДИ 33,7-45,0%), по сравнению со штаммами, характеризующимися присутствием сочетаний генов, кодирующих два (6,3%, 95% ДИ 3,8-6,7%), три (22,6% ДИ 18,0-27,7%), пять (25,9% ДИ 21,3-31,3%) и шесть факторов патогенности ExPEC соответственно.

### 3.2 Филогенетические группы штаммов ExPEC

При анализе наличия и отсутствия генов *chuA*, *yjaA* и TspE4.C2 было установлено, что статистически значимо ( $p < 0,05$ ) штаммы *E. coli* принадлежали к филогенетической группе В2 – 153 (50,8%, 95% ДИ 45,0 – 56,6) по сравнению со штаммами, относящимися к филогруппам А – 35 (11,6%, 95% ДИ 8,2-15,8), В1 – 21 (7,0% ДИ 4,4 – 10,5) и D – 92 (30,6%, 95% ДИ 27,3 – 36,5) соответственно.

Принадлежность штаммов ExPEC, выделенных из различных биоматериалов, к филогенетическим группам представлена в таблице 32 и на рисунке 6. Выделенные из мочи, *E. coli* независимо от категории пациентов (госпитализированные и амбулаторные), статистически значимо чаще ( $p < 0,05$ ) принадлежали филогенетической группе В2 (57,7%) по сравнению со штаммами филогрупп А (4,6%), В1 (7,2%) и D (30,4%); значимо реже ( $p < 0,05$ ) к филогруппам

Таблица 31 – Частота присутствия факторов патогенности в штаммах ExPEC

| Факторы патогенности                                       | абс        | %           | 95%ДИ            |
|------------------------------------------------------------|------------|-------------|------------------|
| <b>1 фактор</b>                                            | <b>5</b>   | <b>1,7</b>  | <b>0,5-3,8</b>   |
| адгезия                                                    | 3          | 1,0         | 0,2-2,9          |
| сидерофоры                                                 | 2          | 0,7         | 0,1-2,4          |
| <b>2 фактора</b>                                           | <b>19</b>  | <b>6,3</b>  | <b>3,8-6,7</b>   |
| адгезия+сидерофоры                                         | 10         | 3,3         | 1,6-6,0          |
| сидерофоры+РАІ                                             | 1          | 0,3         | 0,0-1,8          |
| адгезия+токсины                                            | 1          | 0,3         | 0,0-1,8          |
| сидерофоры+капсула                                         | 1          | 0,3         | 0,0-1,8          |
| адгезия+капсула                                            | 3          | 1,0         | 0,2-2,9          |
| адгезия+резистентность*                                    | 3          | 1,0         | 0,2-2,9          |
| <b>3 фактора</b>                                           | <b>68</b>  | <b>22,6</b> | <b>18,0-27,7</b> |
| адгезия+сидерофоры+РАІ                                     | 16         | 5,3         | 3,1-8,5          |
| адгезия+токсины+сидерофоры                                 | 7          | 2,3         | 0,9-4,7          |
| адгезия+капсула+резистентность*                            | 5          | 1,7         | 0,5-3,8          |
| адгезия+токсины+капсула                                    | 15         | 5,0         | 2,8-8,1          |
| адгезия+сидерофоры+капсула                                 | 15         | 5,0         | 2,8-8,1          |
| адгезия+сидерофоры+резистентность*                         | 8          | 2,7         | 1,2-5,2          |
| токсины+сидерофоры+капсула                                 | 1          | 0,3         | 0,0-1,8          |
| сидерофоры+капсула+резистентность*                         | 1          | 0,3         | 0,0-1,8          |
| сидерофоры+капсула+РАІ                                     | 1          | 0,3         | 0,0-1,8          |
| <b>4 фактора</b>                                           | <b>118</b> | <b>39,2</b> | <b>33,7-45,0</b> |
| адгезия+капсула+резистентность*+РАІ                        | 1          | 0,3         | 0,0-1,8          |
| адгезия+сидерофоры+резистентность*+РАІ                     | 19         | 6,3         | 3,8-9,7          |
| адгезия+токсины+сидерофоры+резистентность*                 | 23         | 7,6         | 4,9-11,3         |
| адгезия+токсины+капсула+резистентность*                    | 4          | 1,3         | 0,4-3,4          |
| адгезия+сидерофоры+капсула+резистентность*                 | 42         | 14,0        | 10,2-18,4        |
| адгезия+сидерофоры+капсула+РАІ                             | 11         | 3,7         | 1,8-6,4          |
| адгезия+токсины+сидерофоры+РАІ                             | 8          | 2,7         | 1,2-5,2          |
| адгезия+токсины+сидерофоры+капсула                         | 8          | 2,7         | 1,2-5,2          |
| адгезия+инвазия+сидерофоры+капсула                         | 2          | 0,7         | 0,1-2,4          |
| <b>5 факторов</b>                                          | <b>78</b>  | <b>25,9</b> | <b>21,1-31,3</b> |
| адгезия+сидерофоры+капсула+резистентность*+РАІ             | 32         | 10,6        | 7,4-14,7         |
| адгезия+токсины+сидерофоры+капсула+РАІ                     | 10         | 3,3         | 1,6-6,0          |
| адгезия+токсины+сидерофоры+резистентность*+РАІ             | 15         | 5,0         | 2,8-8,1          |
| адгезия+токсины+сидерофоры+капсула+резистентность*         | 21         | 7,0         | 4,4-10,5         |
| <b>6 факторов</b>                                          | <b>13</b>  | <b>4,3</b>  | <b>2,3-7,3</b>   |
| адгезия+токсины+сидерофоры+капсула+резистентность*+РАІ     | 11         | 3,7         | 1,8-6,4          |
| адгезия+инвазия+токсины+сидерофоры+капсула+резистентность* | 2          | 3,7         | 1,8-6,4          |

Примечание: \* фактор устойчивости к бактерицидному действию сыворотки крови



Таблица 32 – Филогенетические группы штаммов ExPEC, выделенных из различных биоматериалов

| Вид биоматериала        | Филогенетические группы |           |          |           |           |
|-------------------------|-------------------------|-----------|----------|-----------|-----------|
|                         |                         | A         | B1       | B2        | D         |
| моча                    | абс                     | 9         | 14       | 112       | 59        |
|                         | %                       | 4,6       | 7,2      | 57,7      | 30,4      |
|                         | 95% ДИ                  | 2,1-8,6   | 4,0-11,8 | 50,5-64,8 | 24,0-37,4 |
| кровь                   | абс                     |           |          | 2         | 3         |
|                         | %                       |           |          | 40        | 60        |
|                         | 95% ДИ                  |           |          | 5,3-85,3  | 14,7-94,7 |
| раневое отделяемое      | абс                     | 4         | 5        | 6         | 10        |
|                         | %                       | 16,0      | 20,0     | 24,0      | 40,0      |
|                         | 95% ДИ                  | 4,5-36,1  | 6,8-40,7 | 9,4-45,1  | 21,1-61,3 |
| мокрота                 | абс                     | 1         |          | 7         | 4         |
|                         | %                       | 8,3       |          | 58,3      | 33,3      |
|                         | 95% ДИ                  | 0,2-38,5  |          | 27,7-84,8 | 9,9-65,1  |
| перитонеальная жидкость | абс                     | 21        | 2        | 26        | 16        |
|                         | %                       | 32,3      | 3,1      | 40,0      | 24,6      |
|                         | 95% ДИ                  | 21,2-45,1 | 0,4-10,7 | 28,0-52,9 | 14,8-36,9 |
| Всего                   | абс                     | 35        | 21       | 153       | 92        |
|                         | %                       | 11,6      | 7,0      | 50,8      | 30,6      |
|                         | 95% ДИ                  | 8,2-15,8  | 4,4-10,5 | 45,0-56,6 | 25,4-36,1 |

А и В1, по сравнению с В2 и D. Выделенные из крови штаммы без значимых различий ( $p>0,05$ ) принадлежали к двум филогенетическим группам В2 (40,0%) и D (60,0%). *E. coli*, выделенные из раневого отделяемого, без значимых различий ( $p>0,05$ ) относились к четырем филогруппам, из них: к группе А принадлежали 16,0%, В1 – 20,0%, В2 – 24,0% и D – 40,0% штаммов соответственно. Штаммы, выделенные из мокроты, принадлежали к трем филогенетическим группам, из которых, значимо реже ( $p<0,05$ ) относились к филогенетической группе А (8,3%) по сравнению с группами В2 (58,3%) и D (33,3%) соответственно. *E. coli*, выделенные из перитонеальной жидкости, относились ко всем филогенетическим группам, значимо реже ( $p<0,05$ ) штаммы принадлежали к филогенетической группе В1 (3,1%) по сравнению со штаммами других филогрупп: А – 32,3%, В2 – 40,0% и D – 24,6% соответственно. Филогенетический анализ показал, что каждый второй штамм *E. coli* (50,8%), выделенный при внекишечных

заболеваниях, значимо чаще принадлежал к филогенетической группе B2 ( $p < 0,05$ ) к которой, как правило, относят ExPEC – возбудителей внекишечных инфекций [37, 145, 287].

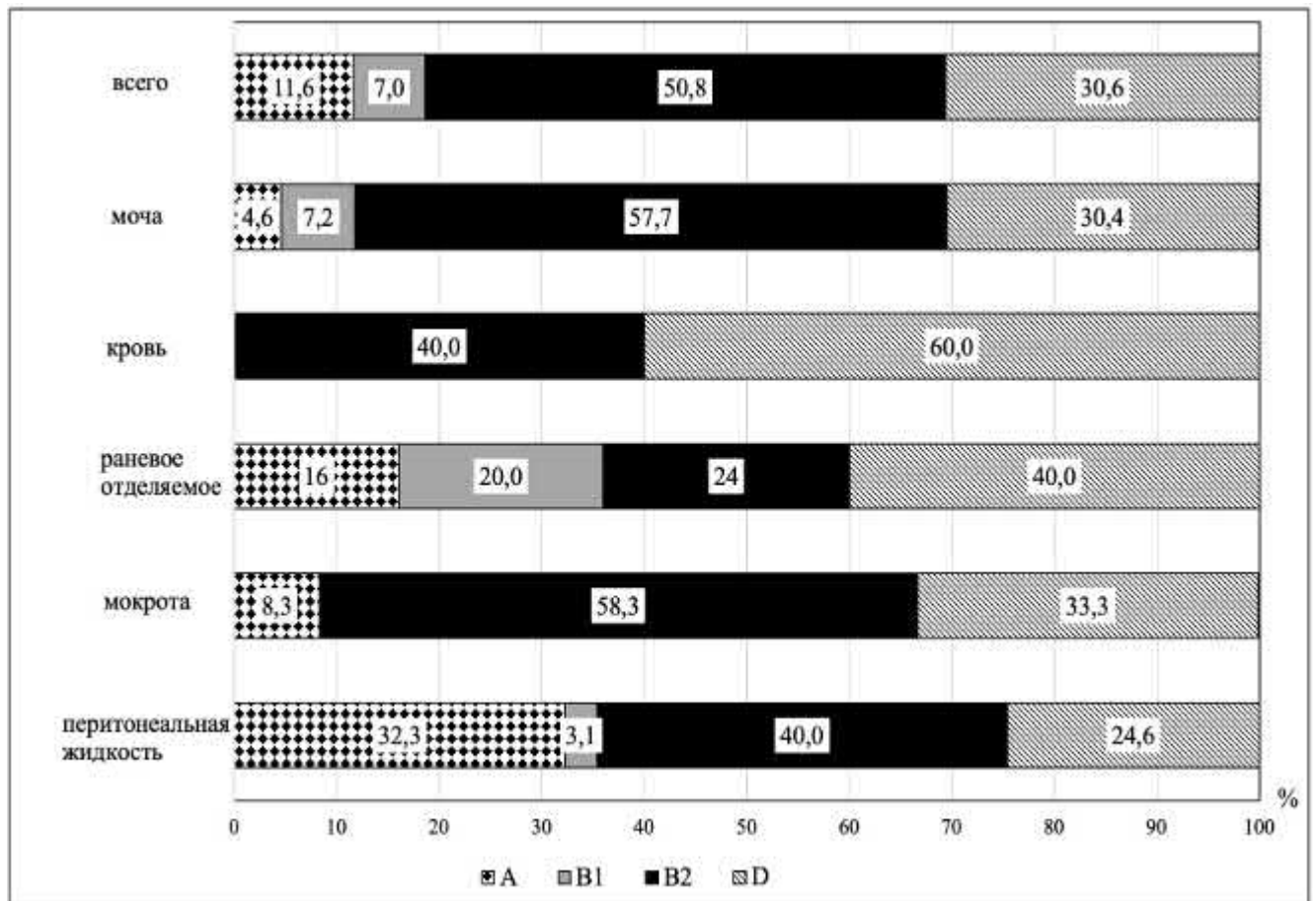


Рисунок 6 – Филогенетическая принадлежность штаммов *E. coli*, выделенных из проб различных биоматериалов

### 3.3. Распространенность генов, кодирующих факторы вирулентности, в штаммах, относящихся к разным филогенетическим группам

Количественное распределение генов, кодирующих факторы вирулентности ExPEC, относящихся к разным филогенетическим группам, представлено в таблице 33 и рисунке 7.

Филогенетическая группа A была представлена 35 (11,6%) штаммами, в которых гены, кодирующие факторы патогенности ExPEC, присутствовали без значимых различий ( $p > 0,05$ ) в сочетаниях (от двух до шести) и изолированно. В геномах двух (5,7%) штаммов было выявлено по одному гену вирулентности.

Остальные 94,3% штаммов без статистически значимых различий ( $p>0,05$ ) характеризовались наличием комбинаций двух (22,9%), трех (17,1%), четырех (28,6%), пяти (20,0%) и шести (5,7%) генов вирулентности соответственно.

Таблица 33 – Количественное распределение генов вирулентности ExPEC в штаммах разных филогенетических групп

| Количество генов | Филогенетические группы |           |           |           |           |           |
|------------------|-------------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
|                  |                         | A         | B1        | B2        | D         | Итого     |
| 1 ген            | abc                     | 2         | 1         |           |           | 3         |
|                  | %                       | 5,7       | 4,8       |           |           | 1,0       |
|                  | 95% ДИ                  | 0,7-19,2  | 0,1-23,8  |           |           | 0,2-2,9   |
| 2 гена           | abc                     | 8         | 1         | 1         | 3         | 13        |
|                  | %                       | 22,9      | 4,8       | 0,7       | 3,3       | 4,3       |
|                  | 95% ДИ                  | 10,4-40,1 | 0,1-23,8  | 0,0-3,4   | 0,7-9,2   | 2,3-7,3   |
| 3 гена           | abc                     | 6         | 2         | 4         | 14        | 26        |
|                  | %                       | 17,1      | 9,5       | 2,6       | 15,2      | 8,6       |
|                  | 95% ДИ                  | 6,6-33,7  | 1,2-30,4  | 0,7-6,6   | 8,6-24,2  | 5,7-12,4  |
| 4 гена           | abc                     | 10        | 6         | 16        | 19        | 51        |
|                  | %                       | 28,6      | 28,6      | 10,5      | 20,7      | 16,9      |
|                  | 95% ДИ                  | 14,6-46,3 | 11,3-52,2 | 6,1-16,4  | 12,9-30,6 | 12,9-21,7 |
| 5 генов          | abc                     | 7         | 6         | 38        | 20        | 71        |
|                  | %                       | 20,0      | 28,6      | 24,8      | 21,7      | 23,6      |
|                  | 95% ДИ                  | 8,4-36,9  | 11,3-52,2 | 18,2-32,5 | 13,8-31,6 | 18,9-28,8 |
| 6 генов          | abc                     | 2         | 2         | 45        | 22        | 71        |
|                  | %                       | 5,7       | 9,5       | 29,4      | 23,9      | 23,6      |
|                  | 95% ДИ                  | 0,7-19,2  | 1,2-30,4  | 22,3-37,3 | 15,6-33,9 | 18,9-28,8 |
| 7 генов          | abc                     |           | 3         | 35        | 12        | 50        |
|                  | %                       |           | 14,3      | 22,9      | 13,0      | 16,6      |
|                  | 95% ДИ                  |           | 3,1-36,3  | 16,5-30,4 | 6,9-21,7  | 12,6-21,3 |
| 8 генов          | abc                     |           |           | 8         | 1         | 9         |
|                  | %                       |           |           | 5,2       | 1,1       | 3,0       |
|                  | 95% ДИ                  |           |           | 2,3-10,0  | 0,0-5,9   | 1,4-5,6   |
| 9 генов          | abc                     |           |           | 5         | 1         | 6         |
|                  | %                       |           |           | 3,3       | 1,1       | 2,0       |
|                  | 95% ДИ                  |           |           | 1,1-7,5   | 0,0-5,9   | 0,7-4,3   |
| 10 генов         | abc                     |           |           | 1         |           | 1         |
|                  | %                       |           |           | 0,7       |           | 0,3       |
|                  | 95% ДИ                  |           |           | 0,0-3,4   |           | 0,0-1,8   |
| Всего            | abc                     | 35        | 21        | 153       | 92        | 301       |
|                  | %                       | 11,6      | 7,0       | 50,8      | 30,6      |           |
|                  | 95% ДИ                  | 8,2-15,8  | 4,4-10,5  | 45,0-56,6 | 25,4-36,1 |           |

Филогенетическая группа B1 была представлена 21 (7,0%) штаммами, в которых гены, кодирующие факторы патогенности ExPEC, присутствовали без значимых различий ( $p>0,05$ ) в сочетаниях (от двух до семи) и изолированно. В геноме одного (4,8%) штамма был выявлен один ген вирулентности. Остальные 95,2% штаммов без значимых различий характеризовались наличием комбинаций двух (4,8%), трех (9,5%), четырех (28,6%), пяти (28,6%), шести (9,5%) и семи (14,3%) генов вирулентности соответственно.

Филогенетическая группа B2 была представлена 153 (50,8%) штаммами, в которых гены вирулентности ExPEC присутствовали в сочетаниях (от двух до десяти). Значимо чаще ( $p<0,05$ ) штаммы *E. coli* в своем геноме имели пять (24,8%), шесть (29,4%) и семь (22,9%) генов вирулентности соответственно.

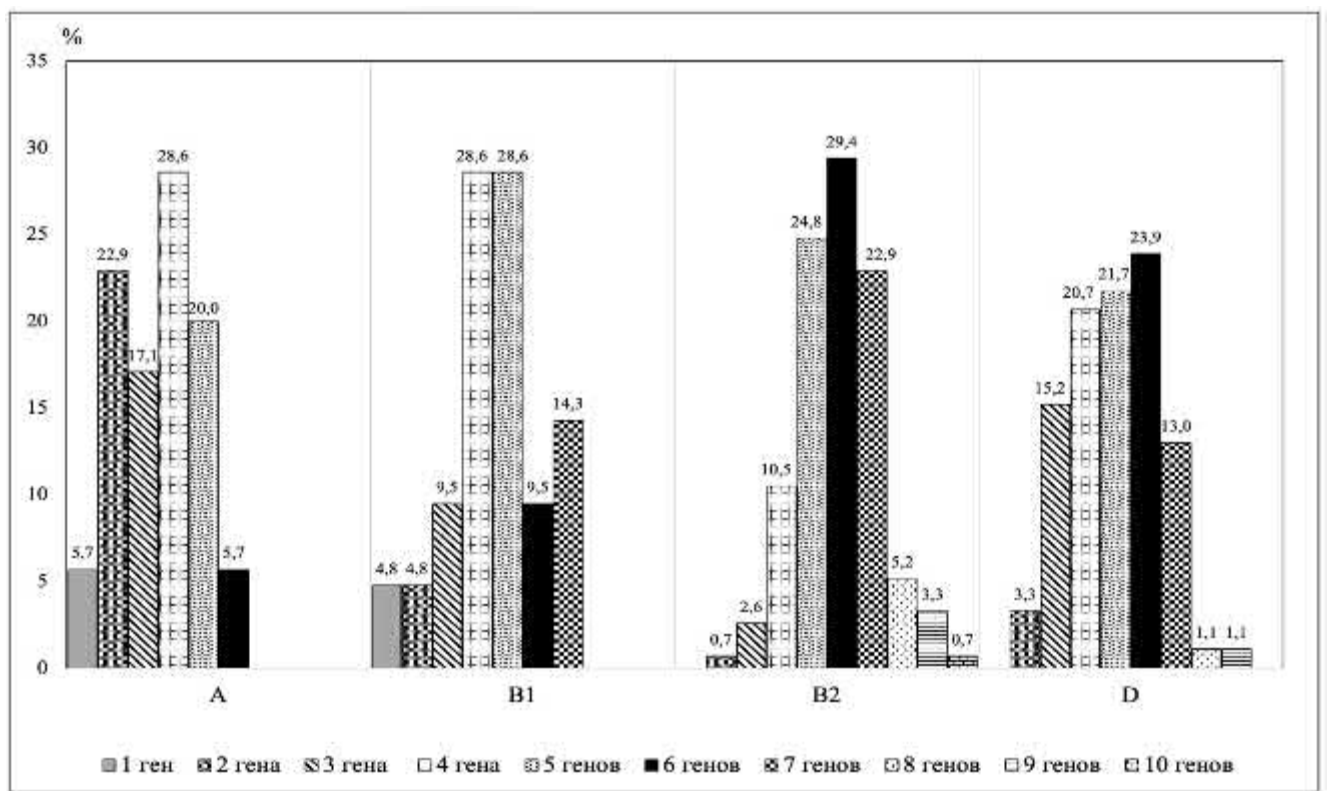


Рисунок 7 – Количественное распределение генов вирулентности в штаммах ExPEC разных филогенетических групп

Филогенетическая группа D была представлена 92 (30,6%) штаммами, в которых гены, кодирующие факторы патогенности ExPEC присутствовали в сочетаниях (от двух до девяти). Значимо чаще ( $p<0,05$ ) штаммы *E. coli* в своем

геноме имели четыре (20,7%), пять (21,7%), шесть (23,9%) генов вирулентности соответственно.

Встречаемость генов и кодируемые ими факторы вирулентности в штаммах ExPEC различных филогенетических групп представлена в таблице 34.

Анализ связи филогруппы и факторов адгезии показал, что штаммы, несущие четыре и пять генов, адгезии значимо чаще ( $p<0,05$ ) принадлежали к филогенетическим группам B2 (98,7%) и D (96,8%) по сравнению со штаммами филогрупп A (74,3%) и B1 (95,2%). В штаммах всех филогенетических групп значимо чаще ( $p<0,05$ ) присутствовал ген *fimH*, кодирующий маннозочувствительные фимбрии I типа, по сравнению с другими генами, ассоциированными с адгезией. Ген *rarp*, кодирующий пиелонефрит-ассоциированные пили, значимо чаще ( $p<0,05$ ) встречался в штаммах *E. coli* филогенетической группы B2 (42,4%), по сравнению со штаммами филогенетических групп A (5,7%), B1 (9,5%) и D (25,8%) соответственно. Ген *afa*, кодирующий афимбриальные антигенсвязывающие адгезины, чаще присутствовал в штаммах филогенетической группы A (20%), по сравнению со штаммами других филогрупп: B1 – 4,8%, B2 – 10,5% и D – 3,2% соответственно. Кодирующий синтез фимбриальных адгезинов, ген *sfa* без значимых различий был выявлен в штаммах трех филогенетических групп B1 – 4,8%, B2 – 11,8% и D – 1,1%. Ген *focG*, кодирующий фимбриальный адгезин F1C уropатогенных *E. coli*, был выявлен только в штаммах филогенетической группы B2 (3,9%).

Анализ встречаемости генов, ассоциированных с продукцией токсинов, показал, что статистически значимо чаще ( $p<0,05$ ) генетические маркеры токсинообразования присутствовали в штаммах филогенетической группы B2 (49%), по сравнению со штаммами других филогенетических групп. Ген *hlyA*, ответственный за синтез  $\alpha$ -гемолизина, в штаммах филогенетической группы A выявлен не был. Статистические различия в присутствии генетических детерминант, ответственных за синтез токсинов цитонекротического фактора (*cnf*) и колицина V (*cva*), в сравниваемых группах выявлены не были ( $p>0,05$ ).

Анализ присутствия генетических маркеров, ответственных за синтез

Таблица 34 – Встречаемость генов и факторов вирулентности в штаммах *E. coli* различных филогенетических групп

| Гены и факторы вирулентности | Филогенетические группы |      |           |         |      |           |           |      |           |         |      |           |
|------------------------------|-------------------------|------|-----------|---------|------|-----------|-----------|------|-----------|---------|------|-----------|
|                              | А, n=35                 |      |           | В, n=21 |      |           | В2, n=153 |      |           | D, n=92 |      |           |
|                              | абс                     | %    | 95% ДИ    | абс     | %    | 95% ДИ    | абс       | %    | 95% ДИ    | абс     | %    | 95% ДИ    |
| Адгезины                     | 26                      | 74,3 | 56,7-87,5 | 20      | 95,2 | 76,2-99,9 | 151       | 98,7 | 95,4-99,8 | 90      | 96,8 | 90,9-99,3 |
| <i>fimH</i>                  | 24                      | 68,6 | 50,7-83,2 | 20      | 95,2 | 76,2-99,9 | 143       | 93,5 | 88,3-96,8 | 88      | 94,6 | 87,9-98,2 |
| <i>rap</i>                   | 2                       | 5,7  | 0,7-19,2  | 2       | 9,5  | 1,2-30,4  | 66        | 43,1 | 35,7-51,4 | 24      | 25,8 | 17,3-34,9 |
| <i>afa</i>                   | 7                       | 20,0 | 8,4-36,9  | 1       | 4,8  | 0,1-23,8  | 16        | 10,5 | 6,1-16,4  | 3       | 3,2  | 0,7-9,1   |
| <i>sfa</i>                   | 0                       | 0    | 0,0-10,0  | 1       | 4,8  | 0,1-23,8  | 18        | 11,8 | 7,1-18,0  | 1       | 1,1  | 0,0-5,9   |
| <i>focG</i>                  | 0                       | 0    | 0,0-10,0  | 0       | 0    | 0,0-16,1  | 6         | 3,9  | 1,5-8,3   | 0       | 0    | 0,0-3,4   |
| Токсины                      | 6                       | 17,1 | 6,6-33,7  | 4       | 19,0 | 5,5-39,8  | 75        | 49,0 | 40,9-57,2 | 37      | 39,8 | 29,8-50,5 |
| <i>hlyA</i>                  | 0                       | 0    | 0,0-10,0  | 1       | 4,8  | 0,1-23,8  | 37        | 24,2 | 17,6-31,8 | 18      | 19,4 | 11,9-28,9 |
| <i>cnf</i>                   | 2                       | 5,7  | 0,7-19,2  | 1       | 4,8  | 0,1-23,8  | 39        | 25,5 | 18,8-33,2 | 14      | 15,1 | 8,5-24,0  |
| <i>cvaC</i>                  | 4                       | 11,4 | 3,2-26,7  | 3       | 14,3 | 3,1-36,3  | 18        | 11,8 | 7,1-18,0  | 12      | 12,9 | 6,9-21,5  |
| Инвазины                     | 0                       | 0    | 0,0-10,0  | 0       | 0    | 0,0-16,1  | 3         | 2,0  | 0,4-5,6   | 1       | 1,1  | 0,0-5,9   |
| <i>ibeA</i>                  | 0                       | 0    | 0,0-10,0  | 0       | 0    | 0,0-16,1  | 3         | 2,0  | 0,4-5,6   | 1       | 1,1  | 0,0-5,9   |
| Сидерофоры                   | 22                      | 62,9 | 44,9-78,5 | 19      | 90,5 | 69,6-98,8 | 140       | 91,5 | 85,9-95,4 | 90      | 96,8 | 90,9-99,3 |
| <i>fyuA</i>                  | 17                      | 48,6 | 31,4-66,0 | 15      | 71,4 | 47,8-88,7 | 130       | 85,6 | 79,0-90,8 | 77      | 82,8 | 73,6-89,8 |
| <i>iutA</i>                  | 21                      | 60,0 | 42,1-76,1 | 15      | 71,4 | 47,8-88,7 | 127       | 83,0 | 76,1-88,6 | 72      | 77,4 | 67,6-85,5 |
| Капсула                      | 17                      | 48,6 | 31,4-66,0 | 13      | 61,9 | 38,4-81,9 | 98        | 64,1 | 55,9-71,6 | 53      | 57,0 | 46,3-67,2 |
| <i>kpsMT III</i>             | 5                       | 14,3 | 4,8-30,3  | 7       | 33,3 | 14,6-57,0 | 34        | 22,2 | 15,9-29,6 | 22      | 23,7 | 15,5-33,6 |
| <i>kpsMT KI</i>              | 2                       | 5,7  | 0,7-19,2  | 0       | 0    | 0,0-16,1  | 33        | 21,6 | 15,3-28,9 | 33      | 35,5 | 25,8-46,1 |
| <i>kpsMT II</i>              | 14                      | 40,0 | 23,9-57,9 | 6       | 28,6 | 11,3-52,2 | 52        | 34,6 | 27,1-42,8 | 33      | 35,5 | 25,8-46,1 |
| Другие                       |                         |      |           |         |      |           |           |      |           |         |      |           |
| <i>traT*</i>                 | 22                      | 62,9 | 44,9-78,5 | 15      | 71,4 | 47,8-88,7 | 99        | 64,7 | 56,6-72,3 | 56      | 60,2 | 49,5-70,2 |
| <i>PAI**</i>                 | 3                       | 8,6  | 1,8-23,1  | 7       | 33,3 | 14,6-57,0 | 82        | 53,6 | 45,4-61,7 | 32      | 34,4 | 24,9-45,0 |

Примечание: \* фактор устойчивости бактериальной клетки к бактерицидному действию сыворотки крови;

\*\* остров патогенности уropатогенных *E. coli*

сидерофоров, не выявил достоверных различий в штаммах, принадлежащих к различным филогенетическим группам ( $p > 0,05$ ). Ген *fyuA*, ответственный за синтез иерсинебактина, значимо реже ( $p < 0,05$ ) встречался в штаммах филогруппы А – 48,6% по сравнению со штаммами групп: В1 – 71,4%, В2 – 85,6% и D – 82,8%, ген *iutA*, ответственный за синтез аэробактина, в сопоставимых долях встречался в штаммах сравниваемых групп ( $p > 0,05$ ).

Гены, кодирующие синтез К-антигенов (*kpsMT III*, *kps KI*, *kpsMT II*), защищающих бактериальную клетку от фагоцитоза, и ген *traT* – фактор резистентности к действию сыворотки крови в сопоставимых долях встречались в штаммах всех филогенетических групп. Маркер острова патогенности UPEC значимо чаще присутствовал в штаммах филогенетической группы В2 ( $p < 0,05$ ) по сравнению с *E. coli*, принадлежащими к группам А, В1 и D.

#### **3.4. Сравнение частоты встречаемости генов и факторов вирулентности в штаммах *E. coli*, выделенных из различных биоматериалов**

Анализ патогенетически значимых генетических детерминант ExPEC показал, что гены, ассоциированные с адгезией, синтезом токсинов, сидерофоров, и капсул, без статистически значимых различий встречались в штаммах *E. coli* независимо от локализации инфекционного процесса (Таблица 35).

При оценке адгезивных свойств штаммов, выделенных из различных биоматериалов, установлено, что в штаммах, выделенных из мочи и перитонеальной жидкости, без статистически значимых различий ( $p > 0,05$ ) присутствовали все пять генов (*fimH*, *rap*, *afa*, *sfa*, *focG*) в различных комбинациях, по сравнению со штаммами сравниваемых групп: в штаммах, выделенных из мокроты отсутствовали гены *sfa* и *focG*, выделенных из крови и раневого отделяемого отсутствовал ген *focG*.

Статистические различия в частоте встречаемости генов, ответственных за синтез  $\alpha$ -гемолизина (*hlyA*) и цитонекротического фактора (*cnf*), в сравниваемых группах выявлены не были ( $p > 0,05$ ). В штаммах, выделенных из крови, отсутствовал ген *cva*, ассоциированный с продукцией колицина V.

Ответственный за инвазию эндотелиоцитов гематоэнцефалического барьера

Таблица 35 – Частота встречаемости генов, кодирующих факторы вирулентности в штаммах *E. coli*, выделенных из различных биоматериалов

| Гены и факторы вирулентности | Вид биологического материала |      |           |                 |      |           |                            |      |           |                                  |      |           |
|------------------------------|------------------------------|------|-----------|-----------------|------|-----------|----------------------------|------|-----------|----------------------------------|------|-----------|
|                              | моча<br>n=194                |      |           | мокрота<br>n=12 |      |           | раневое отделяемое<br>n=25 |      |           | перитонеальная<br>жидкость, n=65 |      |           |
|                              | абс                          | %    | 95% ДИ    | абс             | %    | 95% ДИ    | абс                        | %    | 95% ДИ    | абс                              | %    | 95% ДИ    |
| Адгезины                     | 192                          | 98,7 | 96,3-99,9 | 12              | 100  | 73,5-100  | 24                         | 96,0 | 79,7-99,9 | 57                               | 87,7 | 77,2-94,5 |
| <i>fimH</i>                  | 181                          | 93,3 | 88,8-96,4 | 12              | 100  | 73,5-100  | 24                         | 96,0 | 79,7-99,9 | 57                               | 87,7 | 77,2-94,5 |
| <i>pap</i>                   | 57                           | 29,4 | 23,1-36,3 | 6               | 50,0 | 21,1-78,9 | 8                          | 32,0 | 15,0-53,5 | 17                               | 26,2 | 16,0-38,5 |
| <i>afa</i>                   | 15                           | 7,7  | 4,4-12,4  | 2               | 16,7 | 2,1-48,4  | 1                          | 4,0  | 0,1-20,4  | 8                                | 12,3 | 5,5-22,8  |
| <i>sfa</i>                   | 15                           | 7,7  | 4,4-12,4  | 0               | 0,0  | 0,0-26,5  | 1                          | 4,0  | 0,1-20,4  | 4                                | 6,2  | 1,7-15,0  |
| <i>focG</i>                  | 6                            | 3,1  | 1,1-6,6   | 0               | 0,0  | 0,0-26,5  | 0                          | 0,0  | 0,0-13,7  | 4                                | 6,2  | 1,7-15,0  |
| Токсины                      | 94                           | 48,5 | 41,2-55,7 | 7               | 58,3 | 27,7-84,8 | 9                          | 36,0 | 18,0-57,5 | 12                               | 18,5 | 9,9-30,0  |
| <i>hlyA</i>                  | 41                           | 21,1 | 15,6-27,6 | 4               | 33,3 | 9,9-65,1  | 4                          | 16,0 | 4,5-36,1  | 6                                | 9,2  | 3,5-19,0  |
| <i>cnf</i>                   | 34                           | 17,5 | 12,5-23,6 | 3               | 25,0 | 5,6-57,2  | 7                          | 32,0 | 15,0-53,5 | 9                                | 13,8 | 6,5-24,7  |
| <i>cvaC</i>                  | 30                           | 15,5 | 10,7-21,3 | 1               | 8,3  | 0,2-38,5  | 1                          | 4,0  | 0,1-20,4  | 5                                | 7,7  | 2,5-17,1  |
| Инвазины                     | 4                            | 2,1  | 0,6-5,2   | 0               | 0,0  | 0,0-26,5  | 0                          | 0,0  | 0,0-13,7  | 0                                | 0,0  | 0,0-5,5   |
| <i>ibeA</i>                  | 4                            | 2,1  | 0,6-5,2   | 0               | 0,0  | 0,0-26,5  | 0                          | 0,0  | 0,0-13,7  | 0                                | 0,0  | 0,0-5,5   |
| Сидерофоры                   | 194                          | 100  | 98,1-100  | 11              | 91,7 | 61,5-99,8 | 24                         | 96,0 | 79,7-99,9 | 41                               | 63,1 | 50,2-74,7 |
| <i>fyuA</i>                  | 166                          | 85,6 | 79,8-90,2 | 11              | 91,7 | 61,5-99,8 | 21                         | 84,0 | 63,9-95,5 | 35                               | 53,8 | 41,0-66,3 |
| <i>iutA</i>                  | 161                          | 83,0 | 77,0-88,0 | 11              | 91,7 | 61,5-99,8 | 22                         | 88,0 | 68,8-97,5 | 35                               | 53,8 | 41,0-66,3 |
| Капсула                      | 120                          | 61,9 | 54,6-68,7 | 6               | 50,0 | 21,1-78,9 | 12                         | 48,0 | 27,8-68,7 | 40                               | 61,6 | 48,6-73,4 |
| <i>kpsMT III</i>             | 47                           | 24,2 | 18,4-30,9 | 3               | 25,0 | 5,6-57,2  | 9                          | 36,0 | 18,0-57,5 | 13                               | 20,0 | 11,1-31,8 |
| <i>kpsMT KI</i>              | 53                           | 27,3 | 21,2-34,2 | 0               | 0,0  | 0,0-26,5  | 0                          | 0,0  | 0,0-13,7  | 7                                | 10,8 | 4,4-20,9  |
| <i>kpsMT II</i>              | 57                           | 29,4 | 23,1-34,2 | 3               | 25,0 | 5,6-57,2  | 3                          | 12,0 | 2,6-31,2  | 27                               | 41,5 | 29,4-54,4 |
| Другие                       |                              |      |           |                 |      |           |                            |      |           |                                  |      |           |
| <i>traT*</i>                 | 115                          | 59,3 | 52,0-66,3 | 11              | 91,7 | 61,5-99,8 | 21                         | 84,0 | 63,9-95,5 | 40                               | 61,5 | 48,6-73,4 |
| <i>PAI**</i>                 | 71                           | 36,6 | 29,8-43,8 | 6               | 50,0 | 21,1-78,9 | 11                         | 44,0 | 24,4-65,1 | 0                                | 0,0  | 0,0-5,5   |

Примечание: \* фактор устойчивости бактериальной клетки к бактерицидному действию сыворотки крови;

\*\* остров патогенности уropатогенных *E. coli*



ген *ibeA* был выявлен только в штаммах, выделенных из мочи пациентов, находившихся на стационарном лечении.

Анализ присутствия генетических маркеров, ответственных за синтез сидерофоров, не выявил статистически достоверных различий в штаммах, выделенных из мочи, крови, мокроты и раневого отделяемого ( $p > 0,05$ ). Гены, ответственные за синтез иерсинебактина (*fyuA*) и аэробактина (*iutA*), значимо реже встречались в штаммах, выделенных из перитонеальной жидкости, по сравнению со штаммами, выделенными из мочи, ( $p < 0,05$ ).

Генетические детерминанты (*kpsMTII* и *kpsMTIII*), кодирующие капсульные антигены II и III группы (антигены K1, K5, K12 и K3, K10, K54), без значимых различий присутствовали в штаммах сравниваемых групп ( $p > 0,05$ ).

Типоспецифический ген *kpsMT K1*, ответственный за синтез K1 антигена, в штаммах, выделенных из крови, мокроты и раневого отделяемого, не был обнаружен; значимо чаще, присутствовал в штаммах, изолированных из мочи ( $p < 0,05$ ), по сравнению с выделенными из перитонеальной жидкости.

Ген *traT*, кодирующий фактор резистентности к действию сыворотки крови в сопоставимых долях встречался в штаммах сравниваемых групп ( $p > 0,05$ ). Маркер острова патогенности UPEC значимо реже ( $p < 0,05$ ) присутствовал в штаммах, выделенных из перитонеальной жидкости, по сравнению со штаммами, выделенными из крови, мочи, мокроты и раневого отделяемого.

### **3.5. Определение критериев при оценке этиологической значимости штаммов *E. coli*, выделенных из различных биологических материалов**

Одной из функций лаборатории клинической микробиологии является интерпретация полученных результатов и оценка клинической значимости выделенного микроорганизма. Общепризнанным критерием отнесения изолята *E. coli* к группе ExPEC является присутствие двух или более основных маркеров вирулентности: *rar* (пиелонефрит-ассоциированные пили), *sfa* (S – фимбрии), *focG* (FIC фимбрии), *afa* (афимбриальные адгезины), *kpsMT II* (капсульный полисахарид группы II), включая *kpsMT K1* (K1 антиген), *iutA* (аэробактин). Дополнительные маркеры, которые не являются типичными факторами

вирулентности, могут быть связаны со «статусом» ExPEC (*fimH*, *hlyA*, *cvaC*, *cnf*, *cdtB*, *kpsMTIII*, *ibeA*, *traT* и PAI). Они относятся к так называемым – потенциальным факторам вирулентности, которые способствуют адаптивной конкурентоспособной колонизации органов и систем человека [220, 223, 318]. Штаммы *E. coli*, которые помимо основных генов вирулентности ExPEC имеют и потенциальные, обладают повышенной способностью адаптироваться к новым нишам, что позволяет им вызывать широкий спектр заболеваний.

Основную сложность при интерпретации результатов представляют изоляты, выделенные из мочи амбулаторных и перитонеальной жидкости госпитализированных пациентов, за счет возможной контаминации *E. coli* – представителями микробиоты кишечника.

Анализ присутствия генов, кодирующих факторы патогенности ExPEC, у штаммов *E. coli*, выделенных из крови, мокроты, раневого отделяемого и мочи госпитализированных пациентов, показал, что все изоляты в своем геноме имели от четырех до десяти маркеров вирулентности, кодирующих основные и дополнительные факторы вирулентности ExPEC (Приложения 7, 8, 9, 10).

Анализ встречаемости патогенетически значимых для ExPEC генетических детерминант у 65 штаммов *E. coli*, выделенных из перитонеальной жидкости, выявил 47 индивидуальных генотипов вирулентности (Приложение 11). 57 (87,7%) штаммов имели достаточное количество основных генов в комбинации с дополнительными (от трех до девяти), что позволило, используя критерии оценки, признать их клиническую и этиологическую значимость при флегмонозных аппендицитах. Два штамма, принадлежащие к филогенетической группе А, имели только один дополнительный ген фактора вирулентности ExPEC (*fimH*) и по этой характеристике были расценены как непатогенные *E. coli*. Шесть штаммов, из которых пять принадлежали к филогруппе А и один к группе В1, в своем геноме имели по два гена вирулентности в двух различных комбинациях: «основной + дополнительный» и «дополнительный + дополнительный», соответственно по этим характеристикам также не относились к истинным возбудителям ExPEC.

Анализ спектров факторов вирулентности и филогенетической

принадлежности штаммов *E. coli*, выделенных из мочи амбулаторных пациентов, представлен в приложении 12. У 100 изученных штаммов были выявлены 79 индивидуальных генотипов вирулентности. Статистически значимо доминирующий генотип не был выявлен. Из пяти штаммов, принадлежащих к филогенетической группе А, четыре не удовлетворяли критериям принадлежности к группе истинных UPEC. Из восьми штаммов, принадлежащих к филогенетической группе В1, к контаминантам были отнесены три штамма. Все штаммы филогенетических групп В2 и D удовлетворяли критериям принадлежности к ExPEC (UPEC).

### **3.6. Выявление генов, кодирующих факторы патогенности DEC, в штаммах ExPEC, выделенных из различных биологических материалов**

В последние годы в научной литературе появляются данные о появлении гибридных штаммов *E. coli*, несущих гены различных патотипов (DEC и ExPEC), которые могут иметь сходные фило- и серогруппы, и общие генетические детерминанты вирулентности [103, 248, 254, 258, 314].

Все изученные штаммы были тестированы в ПЦР набором реагентов для выявления и дифференциации ДНК диареогенных *E. coli* «АмплиСенс® Эшерихиозы-FL». В штаммах, выделенных из крови, мокроты, раневого отделяемого и перитонеальной жидкости, маркеры DEC, включая EAgEC, выявлены не были. Среди изолятов, выделенных из мочи госпитализированных пациентов, были выявлены 14 (14,9%) штаммов, относящихся к патогруппе EAgEC. Детальная характеристика штаммов была представлена в главе 2.

### **3.7. Мультилокусное секвенирование – типирование штаммов *E. coli*, выделенных при ИСМП из различных биологических материалов**

MLST типирование 136 штаммов *E. coli* – возбудителей ИСМП, выделенных из крови, мокроты, мочи и раневого отделяемого, выявило их принадлежность к 28 известным сиквенс типам (ST), со значимым доминированием (72,1%) трех международных клонов высокого эпидемического риска: ST131 (34,6%), ST38 (19,1%), и ST405 (18,4%). Другие ST были представлены единичными штаммами. Частота встречаемости штаммов,

принадлежащих к различным ST, представлена в таблице 36. Штаммы, выделенные из мочи, характеризовались значимо большим клональным разнообразием (21 ST), по сравнению со штаммами, выделенными из крови (два ST), мокроты (шесть ST) и раневого отделяемого (десять ST). Ведущий ST131 относится к числу международных клонов, имеет глобальное распространение и

Таблица 36 – Сиквенс-типы штаммов *E. coli*, выделенные из различных биологических материалов

| Сиквенс - тип | n (%) штаммов | Вид биологического материала |                |                  |                             |
|---------------|---------------|------------------------------|----------------|------------------|-----------------------------|
|               |               | моча<br>n (%)                | кровь<br>n (%) | мокрота<br>n (%) | раневое<br>отделяемое n (%) |
| ST10          | 2 (1,5)       | 2 (2,1)                      | -              | -                | -                           |
| ST 12         | 3 (2,2)       | 2 (2,1)                      | -              | 1 (8,3)          | -                           |
| ST 38         | 26 (19,1)     | 18 (19,1)                    | -              | 4 (33,3)         | 4 (16,0)                    |
| ST 44         | 1 (0,7)       | -                            | -              | -                | 1 (4,0)                     |
| ST 46         | 2 (1,5)       | 1 (1,1)                      | -              | -                | 1 (4,0)                     |
| ST 69         | 2 (1,5)       | -                            | -              | 1 (8,3)          | 1 (4,0)                     |
| ST 80         | 1 (0,7)       | 1 (1,1)                      | -              | -                | -                           |
| ST 88         | 1 (0,7)       | -                            | -              | 1(8,3)           | -                           |
| ST 101        | 2 (1,5)       | 2 (2,1)                      | -              | -                | -                           |
| ST 117        | 1 (0,7)       | 1(1,1)                       | -              | -                | -                           |
| ST 127        | 1 (0,7)       | 1(1,1)                       | -              | -                | -                           |
| ST 131        | 47 (34,6)     | 36 (38,4)                    | 1 (20,0)       | 3 (25,0)         | 7 (28,0)                    |
| ST 141        | 1 (0,7)       | 1(1,1)                       | -              | -                | -                           |
| ST 155        | 1 (0,7)       | 1(1,1)                       | -              | -                | -                           |
| ST 167        | 2 (1,5)       | 2 (2,1)                      | -              | -                | -                           |
| ST 216        | 1 (0,7)       | -                            | -              | -                | 1 (4,0)                     |
| ST 354        | 1 (0,7)       | 1(1,1)                       | -              | -                | -                           |
| ST 372        | 1 (0,7)       | 1(1,1)                       | -              | -                | -                           |
| ST 405        | 25 (18,4)     | 15 (16,0)                    | 4 (80,0)       | 2 (16,7)         | 5 (20,0)                    |
| ST 420        | 1 (0,7)       | 1(1,1)                       | -              | -                | -                           |
| ST 453        | 1 (0,7)       | 1(1,1)                       | -              | -                | -                           |
| ST 617        | 2 (1,5)       | -                            | -              | -                | 2 (8,0)                     |
| ST 636        | 1 (0,7)       | 1(1,1)                       | -              | -                | -                           |
| ST 648        | 2 (1,5)       | 2 (2,1)                      | -              | -                | -                           |
| ST 1172       | 2 (1,5)       | -                            | -              | -                | 2 (8,0)                     |
| ST 1494       | 1 (0,7)       | -                            | -              | -                | 1 (4,0)                     |
| ST 1664       | 2 (1,5)       | 2 (2,1)                      | -              | -                | -                           |
| ST 4985       | 1 (0,7)       | 1(1,1)                       | -              | -                | -                           |
| Всего ST      | 28            | 21                           | 2              | 6                | 10                          |

является доминирующим генотипом MDR *E. coli* во многих странах [162, 253, 259, 284, 296, 358]. Выявленный широкий спектр ST с преобладанием трех ST131, ST38, ST405 соответствует представлениям о клональной структуре MDR *E. coli*, для которой характерно наличие небольшого числа успешных клонов, имеющих глобальное распространение, на фоне значительного разнообразия генотипов. 42% штаммов *E. coli* ST38, выделенных из мочи, характеризовались наличием генов EA<sub>g</sub>EC. По данным литературы *E. coli* этой клональной линии относят к высоковирулентным гибридным штаммам UPEC/ EA<sub>g</sub>EC [142]. Особо следует отметить, что штаммы *E. coli* ST 405 относят к основным патогенам уросепсиса, что подтверждает его присутствие во всех пробах биологического материала и лидирующее положение (80%) в крови.

### **3.8. Выявление *E. coli* международного клона ST131 в штаммах, выделенных из мочи и перитонеальной жидкости**

У 17% штаммов *E. coli*, выделенных из мочи амбулаторных пациентов, и 9,2% штаммов, выделенных из перитонеальной жидкости экстренно госпитализированных пациентов, принадлежащих к филогенетической группе B2, были выявлены специфические гены (*pabBspe* и *trpA*), ассоциированные с принадлежностью к ST131 и серовару O25:H4.

**Заключение по главе.** Детальное изучение *E. coli*, выделенных от пациентов с инфекционными заболеваниями внекишечной локализации, показало, что 50,8% штаммов принадлежали к филогенетической группе B2, к которой, как правило, относят ExPEC. Выделенные из мочи госпитализированных пациентов 12% штаммов имели маркеры неблагоприятного прогноза течения ИМП: 10,7% - гены *sfa* и *kpsK1*, наличие которых характерно для сепсис (уросепсис) ассоциированных *E. coli* (SEPEC); 1,3% штаммов – ген *ibeA*, ассоциированного с менингеальными *E. coli* (NMEC). У госпитализированных пациентов с ИМП 14,9% штаммов характеризовались гибридным энтероаггративным / уропатогенным (EA<sub>g</sub>EC/UPEC) генотипом. К международному клону высокого риска *E. coli* O25:H4-B2-ST131 принадлежали 70 (23,3%) штаммов ExPEC, из них возбудители ИСМП – 34,6% и внебольничных ГСИ – 17%.

## ГЛАВА 4 ХАРАКТЕРИСТИКА БИОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ШТАММОВ *ESCHERICHIA COLI* – ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ МИКРОБИОТЫ КИШЕЧНИКА

В данном разделе представлены результаты изучения 499 штаммов *E. coli*, выделенных из испражнений 94 взрослых жителей Санкт-Петербурга без признаков острых и хронических заболеваний ЖКТ. От каждого обследованного человека для дальнейшего изучения отбирали по десять лактозоположительных колоний, выросших на среде Эндо в количестве  $10^7$  –  $10^9$  КОЕ/г испражнений. Индивидуальность штаммов была подтверждена методом генотипирования с универсальными праймерами. Штаммы характеризовались типичными культурально-морфологическими свойствами, принадлежали к ферментативно-активному варианту *E. coli* (подвижные, лактоза и индол положительные), не содержали гены вирулентности пяти патогрупп DEC (EPEC, ETEC, ENEC, EIEC, EAgEC), что позволило отнести их к облигатным факультативно-анаэробным представителям нормобиоты кишечника.

Филогенетический анализ показал статистически значимые различия принадлежности штаммов к четырем основным филогруппам. Выявлено значимое превалирование штаммов филогенетической группы А – 62,7% (95% ДИ 58,3-67,0%), к которой, как правило относят комменсальные *E. coli*. К группе В1 принадлежали 3,2% (95% ДИ 1,8-5,2%); В2 – 22,4% (95% ДИ 18,9-2,4%); D – 11,6% (95% ДИ 9,0-14,8%) штаммов соответственно.

Детекция семи генов вирулентности ExPEC, ассоциированных с адгезией: кодирующих фимбрии I типа (*fimH*), имеющих высокий тропизм к рецепторам мочевыводящих путей, пиелонефрит – ассоциированные пили (*rpf*), производные сиаловой кислоты S-фимбрии (*sfa*) и афимбриальные адгезины (*afa*); синтезом компонентов системы утилизации железа – сидерофора аэробактина (*iutA*) и определяющих секрецию токсинов –  $\alpha$ -гемолизина (*hlyA*) и цитонекротического фактора (*cnf*), выявила их неравномерное присутствие в штаммах, принадлежащих к разным филогенетическим группам (Таблица 37, Рисунок 8).

Таблица 37 – Частота встречаемости генов, кодирующих основные факторы вирулентности ExPEC, в штаммах *E. coli* – представителей нормобиоты, принадлежащих к различным филогенетическим группам

| Факторы                         | Гены        | Филогенетические группы |      |           |           |      |           |            |      |           |         |      |           | Частота встречаемости генов<br>n=499 |      |           |
|---------------------------------|-------------|-------------------------|------|-----------|-----------|------|-----------|------------|------|-----------|---------|------|-----------|--------------------------------------|------|-----------|
|                                 |             | A (n=313)               |      |           | B1 (n=16) |      |           | B2 (n=112) |      |           | D (n=5) |      |           |                                      |      |           |
| вирулентности                   |             | абс                     | %    | 95% ДИ    | абс       | %    | 95% ДИ    | абс        | %    | 95% ДИ    | абс     | %    | 95% ДИ    | абс                                  | %    | 95% ДИ    |
| адгезия                         | <i>fimH</i> | 25                      | 8,0  | 5,2-11,6  | 1         | 6,3  | 0,2-30,2  | 104        | 93,0 | 86,4-96,9 | 24      | 41,4 | 28,6-55,1 | 154                                  | 30,9 | 26,8-35,1 |
|                                 | <i>pap</i>  | 24                      | 7,7  | 5,0-11,2  | 0         | 0    | 0-20,6    | 101        | 90,2 | 83,1-95,0 | 20      | 34,5 | 22,5-48,1 | 145                                  | 29,1 | 25,1-33,3 |
|                                 | <i>sfa</i>  | 2                       | 0,6  | 0,1-2,3   | 0         | 0    | 0-20,6    | 43         | 38,4 | 29,4-48,1 | 3       | 5,2  | 1,1-14,4  | 48                                   | 9,6  | 7,2-12,6  |
|                                 | <i>afa</i>  | 10                      | 3,2  | 1,5-5,8   | 0         | 0    | 0-20,6    | 38         | 33,9 | 25,3-43,5 | 20      | 34,5 | 22,5-48,1 | 68                                   | 13,6 | 10,7-17,0 |
| сидерофоры                      | <i>iutA</i> | 30                      | 9,6  | 6,7-13,4  | 1         | 6,3  | 0,2-30,2  | 112        | 100  | 96,8-100  | 29      | 50,0 | 36,6-63,4 | 172                                  | 34,5 | 30,3-38,8 |
| продукция                       | <i>hlyA</i> | 2                       | 0,6  | 0,1-2,3   | 0         | 0    | 0-20,6    | 54         | 48,2 | 38,7-57,9 | 13      | 22,4 | 12,5-35,3 | 69                                   | 13,8 | 10,9-17,2 |
| токсинов                        | <i>cnf</i>  | 0                       | 0    | 0-1,2     | 0         | 0    | 0-20,6    | 29         | 25,9 | 18,1-35,0 | 4       | 6,9  | 1,9-16,7  | 33                                   | 6,6  | 4,6-9,2   |
| гены вирулентности присутствуют |             | 51                      | 16,4 | 12,4-20,9 | 2         | 12,5 | 1,6-38,4  | 104        | 93,0 | 86,4-96,9 | 36      | 62,0 | 48,4-74,5 | 193                                  | 38,7 | 34,4-43,1 |
| гены вирулентности отсутствуют  |             | 262                     | 83,6 | 79,1-87,6 | 14        | 87,5 | 61,7-98,5 | 8          | 7,0  | 3,1-13,6  | 22      | 38,0 | 22,5-51,6 | 306                                  | 61,3 | 56,9-65,6 |

Анализ частоты встречаемости генов вирулентности в штаммах различных филогрупп показал, что у 306 (61,3%) из 499 штаммов *E. coli* – представителей нормобиоты кишечника гены вирулентности ExPEC не были выявлены. У 193 (38,7%) штаммов выявлены гены вирулентности, которые с разной частотой встречались в *E. coli* четырех филогенетических групп. Среди *E. coli* филогрупп А и В1 значимо реже встречались штаммы, у которых присутствовали гены, ассоциированные с ExPEC – 16,4% и 12,5%, по сравнению со штаммами филогрупп В2 и D – 93,0% и 62,0% соответственно.

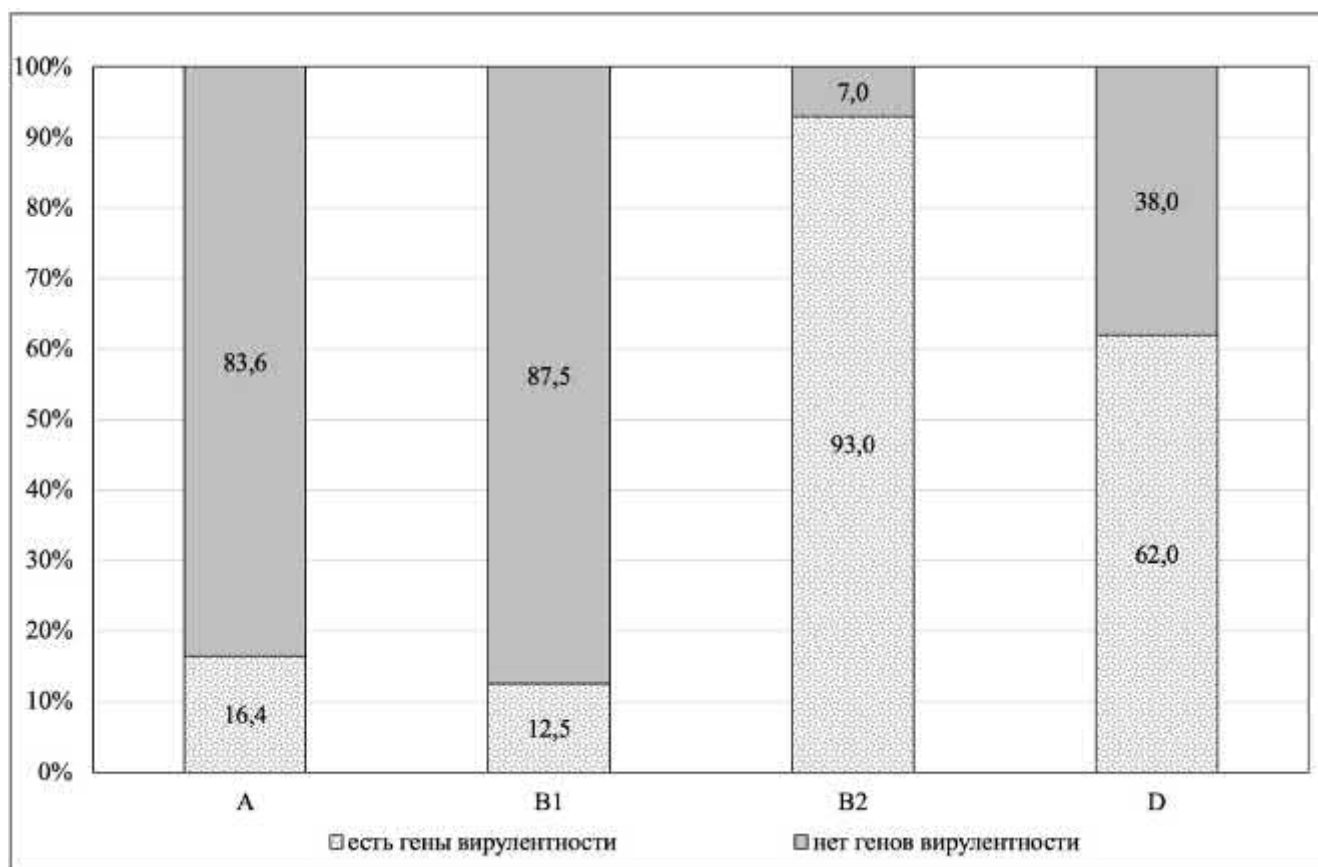


Рисунок 8 – Частота встречаемости генов ExPEC в штаммах *E. coli* различных филогенетических групп

При анализе частоты встречаемости генов, ассоциированных с адгезией, по суммарным данным, статистически значимо чаще выявлялись гены *fimH* – 30,9% (95% ДИ 26,8-35,1%) и *pap* – 29,1% (95% ДИ 25,1-33,3) по сравнению с генами *sfa* – 9,6% (95% ДИ 7,2-12,6) и *afa* – 13,6% (95% ДИ 10,7-17,0%). Ответственный за синтез аэробактина, ген *iutA* был выявлен у 34,5% штаммов *E. coli*, колонизирующих кишечник. Анализ частоты встречаемости генов, ответственных



за синтез токсинов, выявил значимое превалирование *hlyA* (13,8%), кодирующего продукцию  $\alpha$ -гемолизина, по сравнению с *cnf* (6,6%), кодирующего продукцию цитонекротического фактора.

Ассоциированные с адгезией гены значимо чаще встречались в штаммах филогенетической группы B2, ( $p < 0,05$ ). В штаммах филогенетической группы B1 гены *rap*, *sfa* и *afa* выявлены не были. Ген *iutA*, ответственный за синтез аэробактина, значимо чаще присутствовал в штаммах филогенетической группы B2, ( $p < 0,05$ ) по сравнению со штаммами сравниваемых групп. Генетические детерминанты *hlyA* и *cnf*, ответственные за синтез токсинов  $\alpha$ -гемолизина и цитонекротического фактора, в штаммах филогенетической группы B1 выявлены не были. Среди штаммов филогруппы A ген *hlyA* был выявлен только у двух штаммов (0,6%), ген *cnf* выявлен не был. Значимо чаще гены токсинообразования встречались в штаммах филогенетической группы B2, ( $p < 0,05$ ).

Целенаправленный поиск международного клона высокого риска ST131 среди БЛРС продуцирующих *E. coli* – представителей нормобиоты кишечника выявил 15 штаммов, доля которых в общей популяции составляла 3,0%.

В заключение, проведенные нами исследования показали, что среди изученных изолятов *E. coli*, выделенных из проб испражнений здоровых лиц, 38,7% штаммов имели высокий потенциал развития внекишечных инфекций, в частности ИМП. К успешному международному клону высокого риска пандемического распространения *E. coli* O25:H4-B2-ST131 принадлежали 3,0% штаммов. Приведенные данные указывают на актуальность и важность изучения популяции синантропных *E. coli*, как представителей нормобиоты, так как эти исследования представляют собой основу для совершенствования методов прогнозирования и ранней клинической диагностики заболеваний.

## **ГЛАВА 5 ХАРАКТЕРИСТИКА РЕЗИСТЕНТНОСТИ К АНТИМИКРОБНЫМ ПРЕПАРАТАМ ПОПУЛЯЦИИ *ESCHERICHIA COLI*, ВЫДЕЛЕННЫХ ОТ БОЛЬНЫХ И ЗДОРОВЫХ ЛИЦ**

В данном разделе работы представлены результаты сравнительного изучения резистентности к АМП 1033 штаммов *E. coli*. Штаммы коллекции были условно разделены на 4 группы:

группа 1. *E. coli* – возбудители диареегенных заболеваний (DEC) – 233 штамма, выделенных из испражнений больных ОКИ, из них относились к ЕРЕС 76 штаммов, к ЕНЕС 42 штамма, к ЕТЕС 23 штамма, к ЕІЕС 18 штаммов и к ЕАgЕС 74 штамма;

группа 2. *E. coli* – возбудители гнойно-септических заболеваний (ГСИ) – 165 штамма; из них 100 изолятов выделены из мочи пациентов с ИМП, получавших лечение в амбулаторных условиях, и 65 изолятов выделены из перитонеальной жидкости экстренно госпитализированных пациентов с флегмонозными аппендицитами;

группа 3. *E. coli* – возбудители инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи (ИСМП) госпитализированных пациентов – 136 штамма, из них, 94 штамма выделены из мочи при ИМП, 25 штаммов – из раневого отделяемого при инфекциях кожи и мягких тканей области хирургического вмешательства, 12 штаммов – из мокроты нижних отделов дыхательных путей и 5 штаммов – из крови при инфекциях кровотока;

группа 4. *E. coli* – представители облигатной факультативно-анаэробной нормобиоты кишечника взрослых здоровых лиц – 499 штаммов.

Перечень АМП для тестирования штаммов включал препараты, рекомендованные для использования в качестве эмпирической терапии стартового, первого и второго выбора распространенных инфекционных синдромов, вызванных *E. coli*, а также, включенные в перечень препаратов для мониторинга, которым следует уделять особое внимание в рамках стратегии рационального использования АМП [9, 43, 44, 45, 46, 50, 56, 60, 61, 65, 69, 91].

### 5.1 Общая характеристика чувствительности к АМП популяции *E. coli*

Результаты определения чувствительности к АМП коллекции и отдельно по сравниваемым группам штаммов *E. coli* приведены на рисунке 9 и в таблице 38. По суммарным данным чувствительными ко всем тестируемым АМП были 279 (27%) из 1033 изученных штаммов, остальные 754 (73,0%) были устойчивы как минимум к одному АМП. Высокие показатели чувствительности отмечены к меропенему 98,8%, нитрофурантоину 95,3%, амикацину 93,9% хлорамфениколу – 83,1%, к остальным АМП они варьировали от 46,7% (ампициллин) до 78,5% (гентамицин).

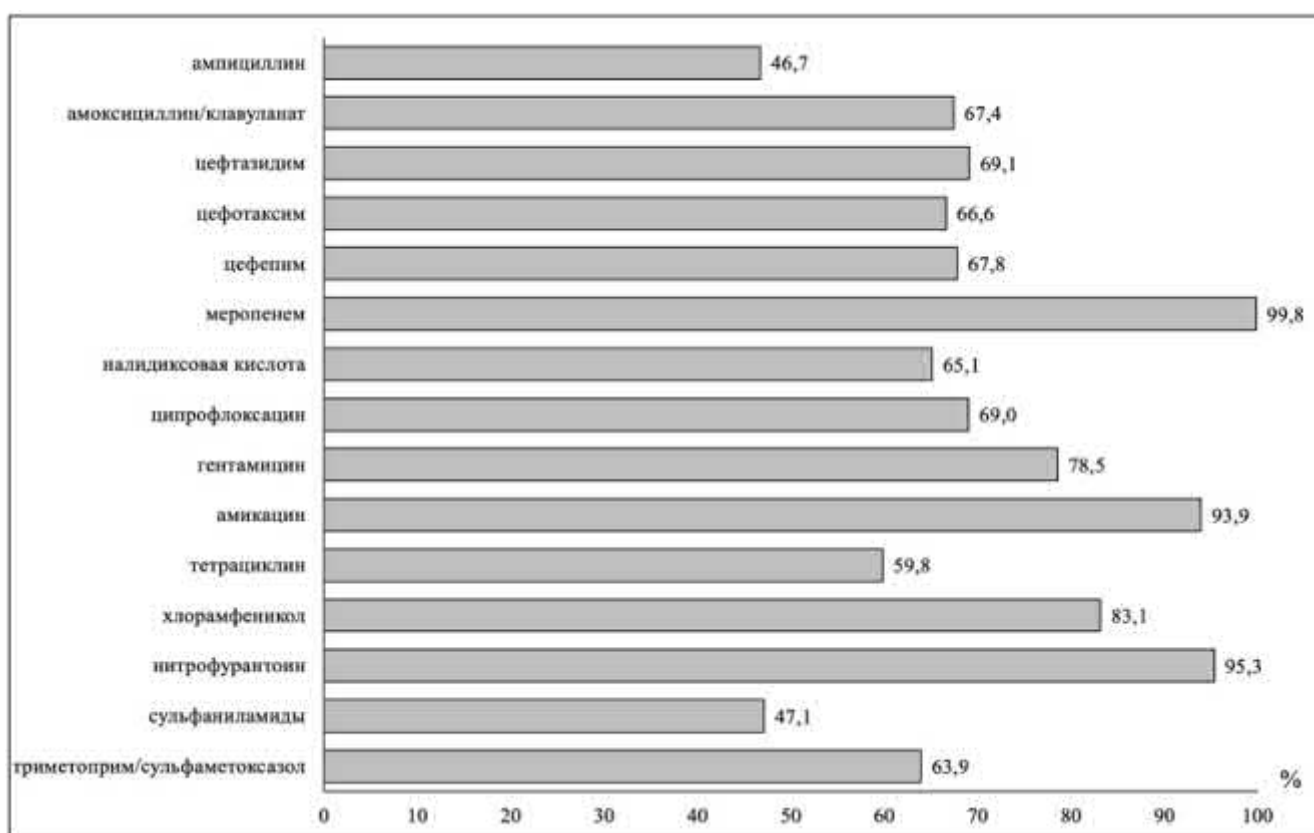


Рисунок 9 – Чувствительность к АМП в общей популяции *E. coli*

Количество чувствительных штаммов было практически одинаковым в группах 1 (35,2%) и 4 (35,7%) – DEC и представителей нормобиоты, и статистически значимо больше по сравнению с группой 2 (11,5%) – возбудителями ГСИ; в группе 3 – возбудителей ИСМП штаммы чувствительные ко всем АМП отсутствовали. Чувствительностью к карбапенемам (меропенему) характеризовались 100% штаммов, принадлежащие к DEC, возбудителям ГСИ и представителям нормобиоты, и 98,5% штаммов группы ИСМП.

Таблица 38 – Общая характеристика штаммов *E. coli* по чувствительности к АМП

| Антимикробный препарат         | Группа 1<br><i>E. coli</i> – возбудители ОКИ (DEC)<br>n = 233 |      |           | Группа 2<br><i>E. coli</i> – возбудители ГСИ<br>n = 165 |      |           | Группа 3<br><i>E. coli</i> – возбудители ИСМП<br>n = 136 |      |           | Группа 4<br><i>E. coli</i> нормобиота кишечника<br>n = 499 |      |           | Итого<br>n = 1033 |      |           |
|--------------------------------|---------------------------------------------------------------|------|-----------|---------------------------------------------------------|------|-----------|----------------------------------------------------------|------|-----------|------------------------------------------------------------|------|-----------|-------------------|------|-----------|
|                                | абс                                                           | %    | 95% ДИ    | абс                                                     | %    | 95% ДИ    | абс                                                      | %    | 95% ДИ    | абс                                                        | %    | 95% ДИ    | абс               | %    | 95% ДИ    |
| ампициллин                     | 107                                                           | 45,9 | 39,4-52,6 | 62                                                      | 37,6 | 30,2-45,4 | 0                                                        | 0    | 0-2,7     | 313                                                        | 62,7 | 58,3-67,0 | 482               | 46,7 | 43,6-49,8 |
| амоксиклав / клавуланат        | 165                                                           | 70,8 | 64,5-76,6 | 91                                                      | 55,2 | 47,2-62,9 | 13                                                       | 9,6  | 5,2-15,8  | 427                                                        | 85,6 | 82,2-88,5 | 696               | 67,4 | 64,4-70,2 |
| цефтазидим                     | 169                                                           | 72,5 | 66,3-78,2 | 93                                                      | 56,4 | 48,4-64,1 | 4                                                        | 2,9  | 0,8-7,4   | 448                                                        | 89,8 | 86,8-92,3 | 714               | 69,1 | 66,2-71,9 |
| цефотаксим                     | 157                                                           | 67,4 | 60,9-73,4 | 91                                                      | 55,2 | 47,2-62,9 | 1                                                        | 0,7  | 0-4,0     | 439                                                        | 88,0 | 84,8-90,7 | 688               | 66,6 | 63,6-69,5 |
| цефепим                        | 174                                                           | 74,7 | 68,6-80,1 | 91                                                      | 55,2 | 47,2-62,9 | 0                                                        | 0    | 0-2,7     | 445                                                        | 89,2 | 86,1-91,8 | 700               | 67,8 | 64,8-70,6 |
| меропенем                      | 233                                                           | 100  | 98,4-100  | 165                                                     | 100  | 97,8-100  | 134                                                      | 98,5 | 94,8-99,8 | 499                                                        | 100  | 99,3-100  | 1031              | 99,8 | 99,3-99,9 |
| налидиксовая кислота           | 174                                                           | 74,7 | 68,6-80,1 | 67                                                      | 40,6 | 33,0-48,5 | 33                                                       | 24,3 | 17,3-32,4 | 398                                                        | 79,8 | 75,9-83,2 | 672               | 65,1 | 62,1-67,9 |
| ципрофлоксацин                 | 188                                                           | 80,7 | 75,0-85,6 | 72                                                      | 43,6 | 35,9-51,6 | 37                                                       | 27,2 | 19,9-35,5 | 416                                                        | 83,4 | 79,8-86,5 | 713               | 69,0 | 66,1-71,8 |
| гентамицин                     | 189                                                           | 81,1 | 75,5-85,9 | 127                                                     | 77,0 | 69,8-83,2 | 51                                                       | 37,5 | 29,4-46,2 | 444                                                        | 89,0 | 85,9-91,6 | 811               | 78,5 | 75,9-81,0 |
| амикацин                       | 231                                                           | 99,1 | 96,9-99,9 | 156                                                     | 94,5 | 89,9-97,5 | 95                                                       | 69,9 | 61,4-77,4 | 488                                                        | 97,8 | 96,1-98,9 | 970               | 93,9 | 92,3-95,3 |
| тетрациклин                    | 148                                                           | 63,5 | 56,9-69,7 | 68                                                      | 41,2 | 33,6-49,1 | 37                                                       | 27,2 | 19,9-35,5 | 365                                                        | 73,1 | 69,0-77,0 | 618               | 59,8 | 56,8-62,8 |
| хлорамфеникол                  | 186                                                           | 79,8 | 74,1-84,8 | 130                                                     | 78,8 | 71,8-84,8 | 84                                                       | 61,8 | 53,1-69,9 | 458                                                        | 91,8 | 89,0-94,0 | 858               | 83,1 | 80,6-85,3 |
| нитрофурантоин                 | 228                                                           | 97,9 | 95,1-99,3 | 156                                                     | 94,5 | 89,9-97,5 | 116                                                      | 85,3 | 78,2-90,8 | 484                                                        | 97,0 | 95,1-98,3 | 984               | 95,3 | 93,8-96,5 |
| сульфаниламид                  | 179                                                           | 76,8 | 70,9-82,1 | 74                                                      | 44,8 | 37,1-52,8 | 19                                                       | 14,0 | 8,6-20,9  | 375                                                        | 75,2 | 71,1-78,9 | 487               | 47,1 | 44,1-50,2 |
| триметоприм / сульфаметоксазол | 155                                                           | 66,5 | 60,1-72,6 | 100                                                     | 60,6 | 52,7-68,1 | 36                                                       | 26,5 | 19,3-34,7 | 369                                                        | 73,9 | 69,9-77,8 | 660               | 63,9 | 60,9-66,8 |
| Всего                          | 82                                                            | 35,2 | 29,1-41,7 | 19                                                      | 11,5 | 7,1-17,4  | 0                                                        | 0    | 0-2,7     | 178                                                        | 35,7 | 31,5-40,1 | 279               | 27,0 | 24,3-29,8 |

В группе  $\beta$ -лактамов выявлена статистически значимая активность ингибиторозащищенного аминопенициллина, цефалоспоринов III-IV поколений и карбапенемов по сравнению с ампициллином ( $p < 0,05$ ). Такая же тенденция отмечена у аминогликозидов III и II поколения (амикацин и гентамицин) и комбинированного триметоприма с сульфаниламидом ( $p < 0,05$ ). Фармакодинамические преимущества фторхинолонов (ципрофлоксацин) над хинолинами (налидиксовая кислота) выявлены не были (65,1% и 69,0%). Единственным из тестируемых не  $\beta$ -лактамов антибиотиком, проявляющим статистически значимую ( $p < 0,05$ ) активность ко всем изученным штаммам *E. coli*, был нитрофурантоин, чувствительность к которому по суммарным данным составляла 95,3%.

## 5.2 Сравнительная характеристика резистентности популяции *E. coli*

Резистентность штаммов была отмечена ко всем группам АМП:  $\beta$ -лактамам, включая карбапенемы, хинолонам/фторхинолонам, аминогликозидам, тетрациклину, хлорамфениколу, нитрофуранам, сульфаниламидам и триметоприму. Резистентность к отдельным группам АМП варьировала от 0,2% к меропенему до 53,3% к ампициллину. Характеристика штаммов *E. coli* по резистентности к АМП, представлена на рисунке 10 и таблице 39.

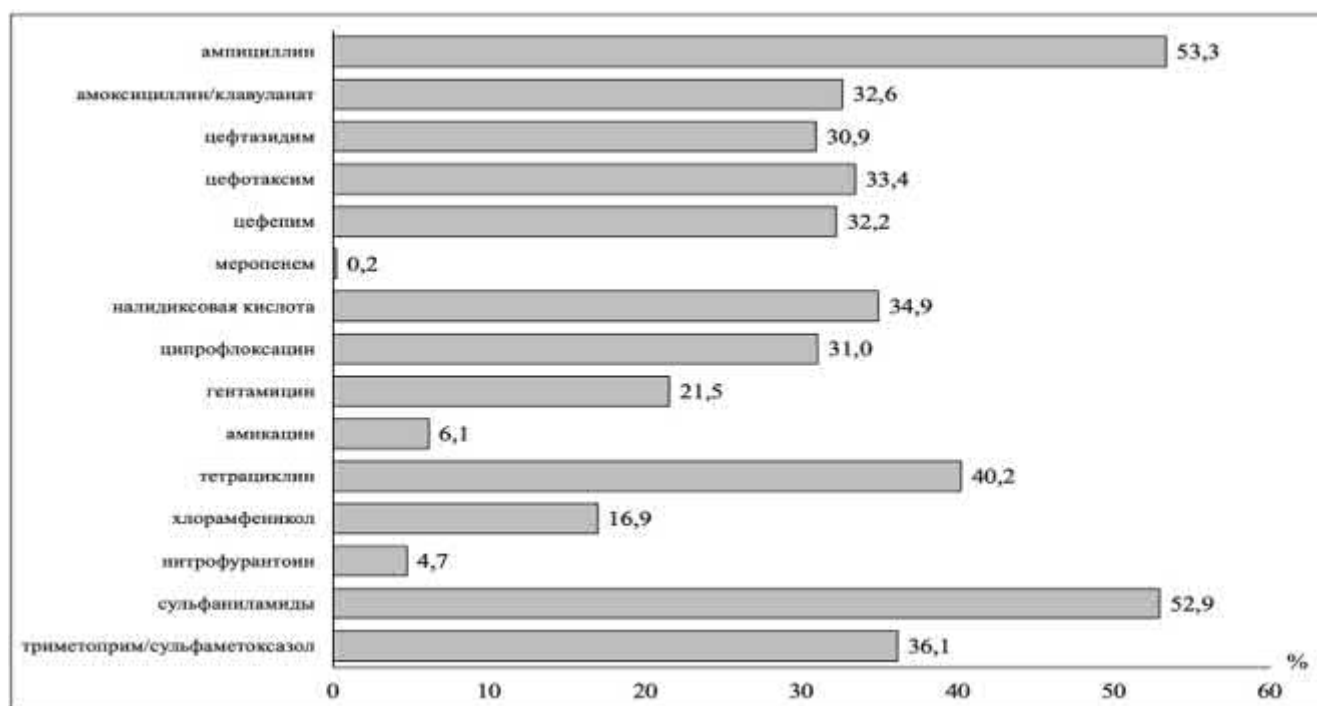


Рисунок 10 – Частота штаммов *E. coli*, резистентных к АМП

Таблица 39 – Общая характеристика штаммов *E. coli* по резистентности к АМП

| Антимикробный препарат            | Группа 1<br><i>E. coli</i> – возбудители<br>ОКИ (DEC)<br>n = 233 |      |           | Группа 2<br><i>E. coli</i> – возбудители<br>ГСИ<br>n = 165 |      |           | Группа 3<br><i>E. coli</i> – возбудители<br>ИСМП<br>n = 136 |      |           | Группа 4<br><i>E. coli</i> нормобиота<br>кишечника<br>n = 499 |      |           | Итого<br>n = 1033 |      |           |
|-----------------------------------|------------------------------------------------------------------|------|-----------|------------------------------------------------------------|------|-----------|-------------------------------------------------------------|------|-----------|---------------------------------------------------------------|------|-----------|-------------------|------|-----------|
|                                   | абс                                                              | %    | 95% ДИ    | абс                                                        | %    | 95% ДИ    | абс                                                         | %    | 95% ДИ    | абс                                                           | %    | 95% ДИ    | абс               | %    | 95% ДИ    |
| ампициллин                        | 126                                                              | 54,1 | 47,5-60,6 | 103                                                        | 62,4 | 54,6-69,8 | 136                                                         | 100  | 97,3-100  | 186                                                           | 37,3 | 33,0-41,7 | 551               | 53,3 | 50,2-56,4 |
| амоксиклав /<br>клавуланат        | 68                                                               | 29,2 | 23,4-35,5 | 74                                                         | 44,8 | 37,1-52,8 | 123                                                         | 90,4 | 84,2-94,8 | 72                                                            | 14,4 | 11,5-17,8 | 337               | 32,6 | 29,8-35,6 |
| цефтазидим                        | 64                                                               | 27,5 | 21,8-33,7 | 72                                                         | 43,6 | 35,9-51,6 | 132                                                         | 97,1 | 92,6-99,2 | 51                                                            | 10,2 | 7,7-13,2  | 319               | 30,9 | 28,1-33,8 |
| цефотаксим                        | 76                                                               | 32,6 | 26,6-39,1 | 74                                                         | 44,8 | 37,1-52,8 | 135                                                         | 99,3 | 95,9-99,9 | 60                                                            | 12,0 | 9,3-15,2  | 345               | 33,4 | 30,5-36,4 |
| цефепим                           | 59                                                               | 25,3 | 19,9-31,4 | 74                                                         | 44,8 | 37,1-52,8 | 136                                                         | 100  | 97,3-100  | 54                                                            | 10,8 | 8,2-13,9  | 333               | 32,2 | 29,4-35,2 |
| меропенем                         | 0                                                                | 0    | 0-1,6     | 0                                                          | 0    | 0-2,2     | 2                                                           | 1,5  | 0,2-5,2   | 0                                                             | 0    | 0-0,7     | 2                 | 0,2  | 0-0,7     |
| налидиксовая<br>кислота           | 59                                                               | 25,3 | 19,9-31,4 | 98                                                         | 59,4 | 51,5-66,9 | 103                                                         | 75,7 | 67,6-82,7 | 101                                                           | 20,2 | 16,8-24,0 | 361               | 34,9 | 32,0-37,9 |
| ципрофлоксацин                    | 45                                                               | 19,3 | 14,5-25,0 | 93                                                         | 56,4 | 48,4-64,1 | 99                                                          | 72,8 | 64,5-80,1 | 83                                                            | 16,6 | 13,5-20,2 | 320               | 31,0 | 28,2-33,9 |
| гентамицин                        | 44                                                               | 18,9 | 14,1-24,5 | 38                                                         | 23,0 | 16,8-30,2 | 85                                                          | 62,5 | 53,8-70,7 | 55                                                            | 11,0 | 8,4-14,1  | 222               | 21,5 | 19,0-24,1 |
| амикацин                          | 2                                                                | 0,9  | 0,1-3,1   | 9                                                          | 5,5  | 2,5-10,1  | 41                                                          | 30,1 | 22,6-38,6 | 11                                                            | 2,2  | 1,1-3,9   | 63                | 6,1  | 4,7-7,7   |
| тетрациклин                       | 85                                                               | 36,5 | 30,3-43,0 | 97                                                         | 58,8 | 50,9-66,4 | 99                                                          | 72,8 | 64,5-80,1 | 134                                                           | 26,9 | 23,0-31,0 | 415               | 40,2 | 37,2-43,2 |
| хлорамфеникол                     | 47                                                               | 20,2 | 15,2-25,9 | 35                                                         | 21,2 | 15,2-28,3 | 52                                                          | 38,2 | 30,0-47,0 | 41                                                            | 8,2  | 5,9-11,0  | 175               | 16,9 | 14,7-19,4 |
| нитрофурантоин                    | 5                                                                | 2,1  | 0,7-4,9   | 9                                                          | 5,5  | 2,5-10,1  | 20                                                          | 14,7 | 9,2-21,8  | 15                                                            | 3,0  | 1,7-5,0   | 49                | 4,7  | 3,5-6,2   |
| сульфаниламид                     | 54                                                               | 23,2 | 17,9-29,1 | 91                                                         | 55,2 | 47,2-62,9 | 117                                                         | 86,0 | 79,1-91,4 | 124                                                           | 24,8 | 21,1-28,9 | 546               | 52,9 | 49,8-55,9 |
| триметоприм /<br>сульфаметоксазол | 78                                                               | 33,5 | 27,5-39,9 | 65                                                         | 39,4 | 31,9-47,3 | 100                                                         | 73,5 | 65,3-80,7 | 130                                                           | 26,1 | 22,3-30,1 | 373               | 36,1 | 33,2-39,1 |
| Всего                             | 151                                                              | 64,8 | 58,3-70,9 | 146                                                        | 88,5 | 82,6-92,9 | 136                                                         | 100  | 97,3-100  | 321                                                           | 64,3 | 60,0-68,5 | 754               | 73,0 | 70,2-75,7 |

### 5.2.1 Характеристика резистентности к $\beta$ - лактамным АМП

*Аминопенициллины (ампициллин):* резистентные штаммы встречались во всех сравниваемых группах *E. coli*. Статистически значимо чаще устойчивость была отмечена в штаммах возбудителей заболеваний (61,6%, ДИ 57,3-65,8%) по сравнению с представителями нормобиоты (37,3%, ДИ 33,0 – 41,7%), а в штаммах возбудителей ИСМП статистически значимо чаще (100%) по сравнению с возбудителями ГСИ (62,4 %) и DEC (54,1%). Резистентные к ампициллину штаммы *E. coli* статистически значимо реже встречались среди представителей нормобиоты кишечника по сравнению со штаммами других групп – возбудителей различных заболеваний ( $p < 0,05$ ).

*Аминопенициллины в комбинации с ингибитором  $\beta$  - лактамаз (амоксиклав / клавулановая кислота):* статистически значимо чаще ( $p < 0,05$ ) устойчивость отмечена в штаммах – возбудителях ИСМП (90,4%) по сравнению с возбудителями ГСИ (44,8%), DEC (29,2%) и представителями нормобиоты кишечника (14,4%). Резистентные к амоксициллин / клавуланату штаммы *E. coli* значимо реже встречались среди представителей нормобиоты кишечника по сравнению со штаммами других групп – возбудителей различных заболеваний ( $p < 0,05$ ). Фармакодинамические преимущества по сравнению с ампициллином проявлялись в статистически значимом увеличении чувствительности к этой группе препаратов ( $p < 0,05$ ) в общей популяции *E. coli* и среди штаммов сравниваемых групп.

*Цефалоспорины III – IV поколения:* резистентность к цефтазидиму, цефотаксиму и цефепиму выявлена без статистически значимых различий у 30,9%, 33,4% и 32,2% штаммов в общей популяции *E. coli*. Такая же тенденция отмечена среди штаммов сравниваемых групп (Рисунок 11).

Статистически значимо чаще устойчивость к цефтазидиму и цефотаксиму (цефалоспорины III поколения) была отмечена в штаммах возбудителей заболеваний по сравнению с представителями нормобиоты (10,2% и 12,0%), а в штаммах возбудителей ИСМП статистически значимо чаще (97,1% и 99,3%) по сравнению с возбудителями ГСИ (43,6 % и 44,8%) и DEC (27,5% и 32,6%), ( $p$

<0,05). Резистентные к цефалоспорином III поколения штаммы *E. coli* значительно реже встречались среди представителей нормобиоты кишечника по сравнению со штаммами других групп – возбудителей различных заболеваний ( $p < 0,05$ ).

Статистически значимых различий в фармакодинамических преимуществах цефепима (цефалоспорином IV поколения) над препаратами III поколения в сравниваемых группах и общей популяции *E. coli* не выявлены, и соответствуют выявленным тенденциям цефалоспоринов III.

*Продукция БЛРС.* У всех штаммов резистентность к цефалоспорином III-IV поколения была обусловлена продукцией БЛРС. В общей популяции продуцентами БЛРС были 33,4% штамма, значительно чаще встречались среди возбудителей заболеваний по сравнению с представителями нормобиоты (14,4%, ДИ 11,5-17,8%), а в штаммах возбудителей ИСМП статистически значительно чаще (100% ДИ 97,3-100%) по сравнению с возбудителями ГСИ (43,0%, ДИ 35,4-50,9%) и DEC (27,9%, ДИ 22,2-34,1%), ( $p < 0,05$ ).

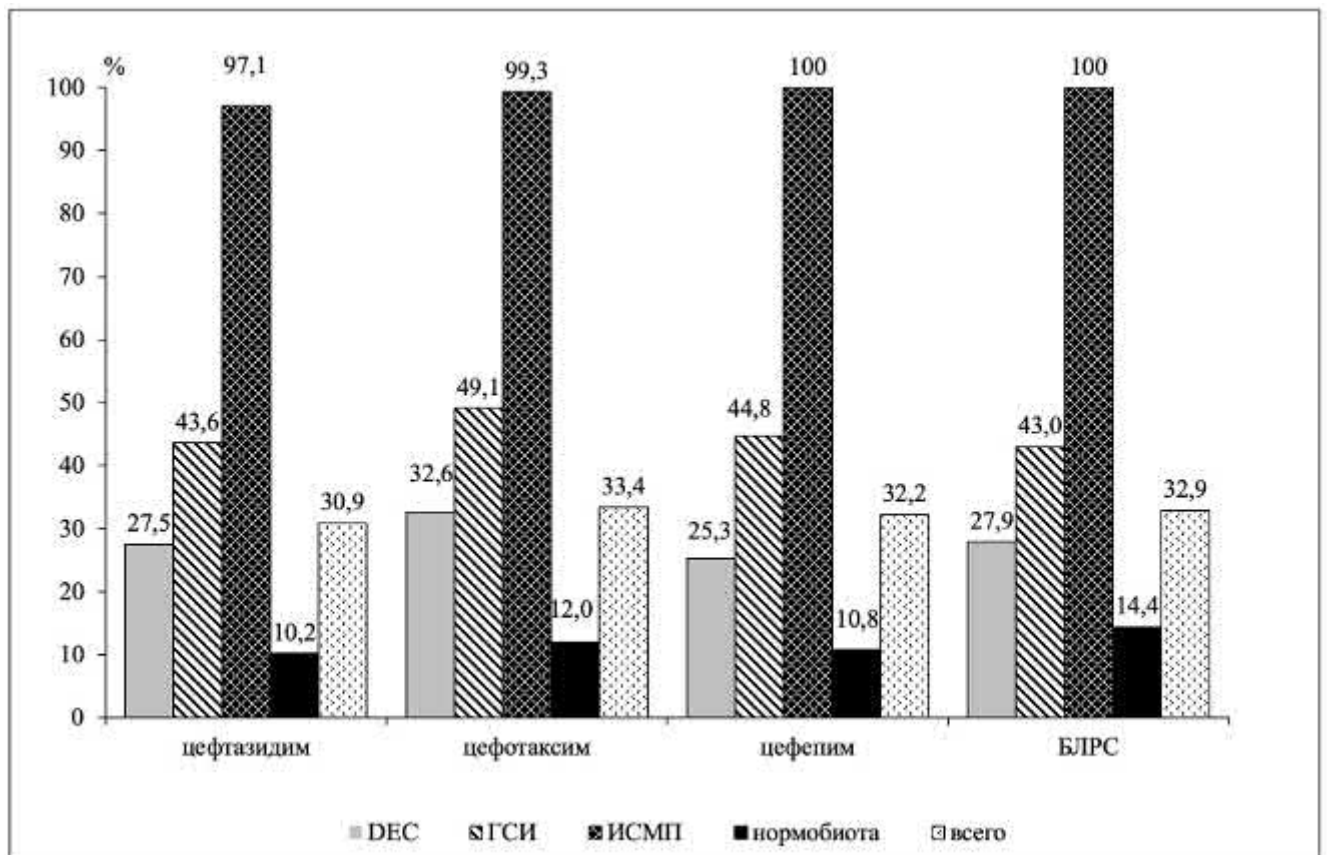


Рисунок 11 – Устойчивость к цефалоспорином III-IV поколения и продукция БЛРС у штаммов *E. coli*



*Карбапенемы*: Резистентные к меропенему два штамма *E. coli*, выявленные из мочи двух госпитализированных пациентов, относились к группе – возбудителей ИСМП. Остальные 1031 штамм коллекции проявляли чувствительность к меропенему. Продукция карбапенемазы была подтверждена в CIM тесте.

### 5.2.2 Характеристика резистентности к фторхинолонам

Резистентность к группе хинолонов (налидиксовая кислота) и фторхинолонов (ципрофлоксацин) встречалась у штаммов четырех сравниваемых групп и в общей популяции составляла 34,9% и 31,0% соответственно (Рисунок 12). Выявленные фармакодинамические преимущества фторхинолонов над хинолонами в сравниваемых группах выражены незначительно, не превышали в штаммах DEC – 6%, ГСИ – 3%, ИСМП – 2,9%, нормобиоты – 3,8%. Статически значимых различий в частоте резистентных штаммов к налидиксовой кислоте и ципрофлоксацину не выявлены между штаммами DEC и нормобиоты, и между штаммами возбудителями ГСИ и ИСМП. В тоже время, статистически значимые различия выявлены между копроизолятами (DEC и нормобиоты) и штаммами ЕхРЕС (ГСИ и ИСМП).

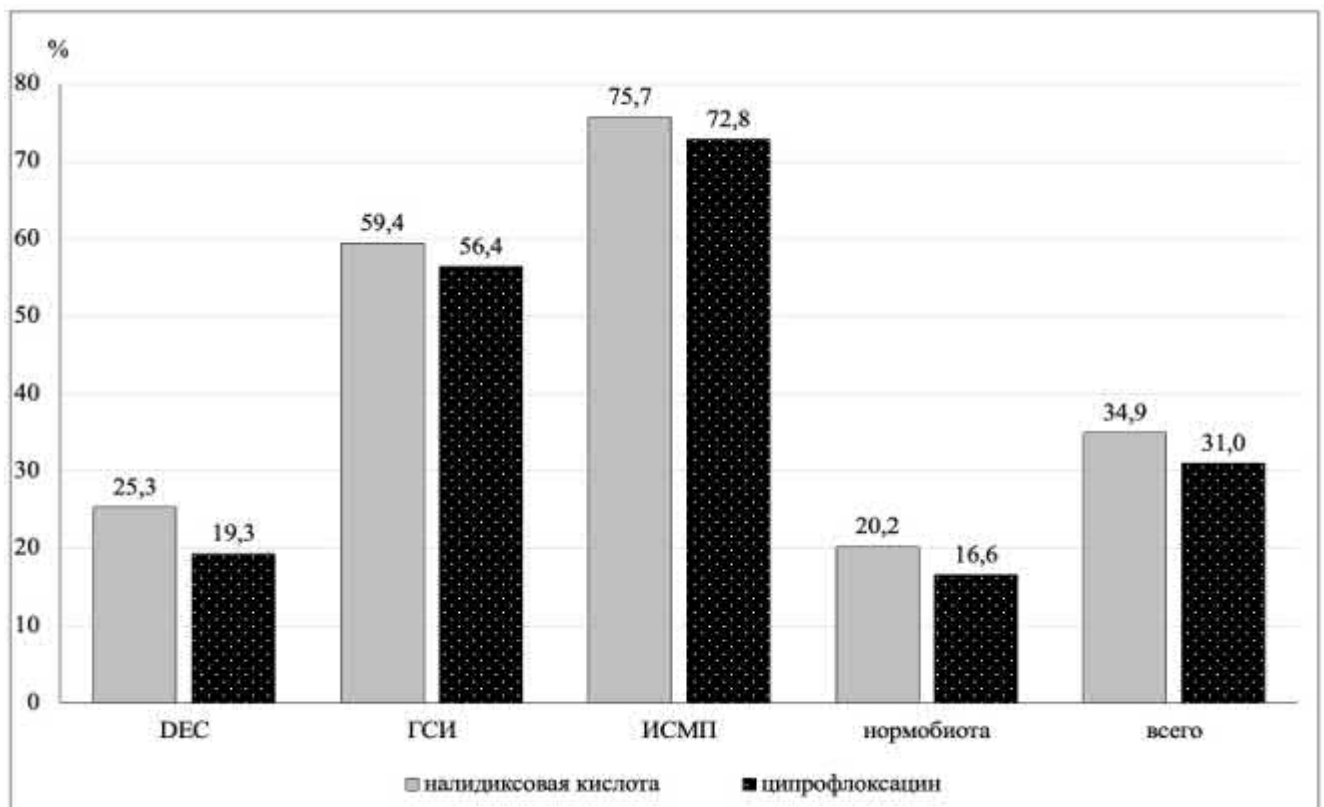


Рисунок 12 – Резистентность к хинолонам / фторхинолонам штаммов *E. coli*

### 5.2.3 Характеристика резистентности к аминогликозидам

Резистентность к группе аминогликозидов II (гентамицин) и III (амикацин) поколений встречалась у штаммов четырех сравниваемых групп и в общей популяции составляла 21,5% и 6,1% соответственно. В общей популяции изученных штаммов выявлены статистически значимые различия фармакодинамического преимущества амикацина по сравнению с гентамицином ( $p < 0,05$ ). Такая же тенденция отмечена среди штаммов сравниваемых групп: DEC (0,9% и 18,9%), ГСИ (5,5% и 23,0%), ИСМП (30,1% и 62,5%), нормобиоты (2,2% и 11,0%). Обращает на себя внимание различные проявления фармакодинамических преимуществ амикацина: в 21 раз в группе DEC, 5 раз в группе нормобиоты, в 4,2 в группе ГСИ и 2 раза – ИСМП (Рисунок 13). Статистически значимые различия в частоте резистентных штаммов к аминогликозидам II – III поколения выявлены между штаммами *E. coli* – возбудителями ИСМП по сравнению со штаммами других групп (ГСИ, DEC, и нормобиоты) ( $p < 0,05$ ).

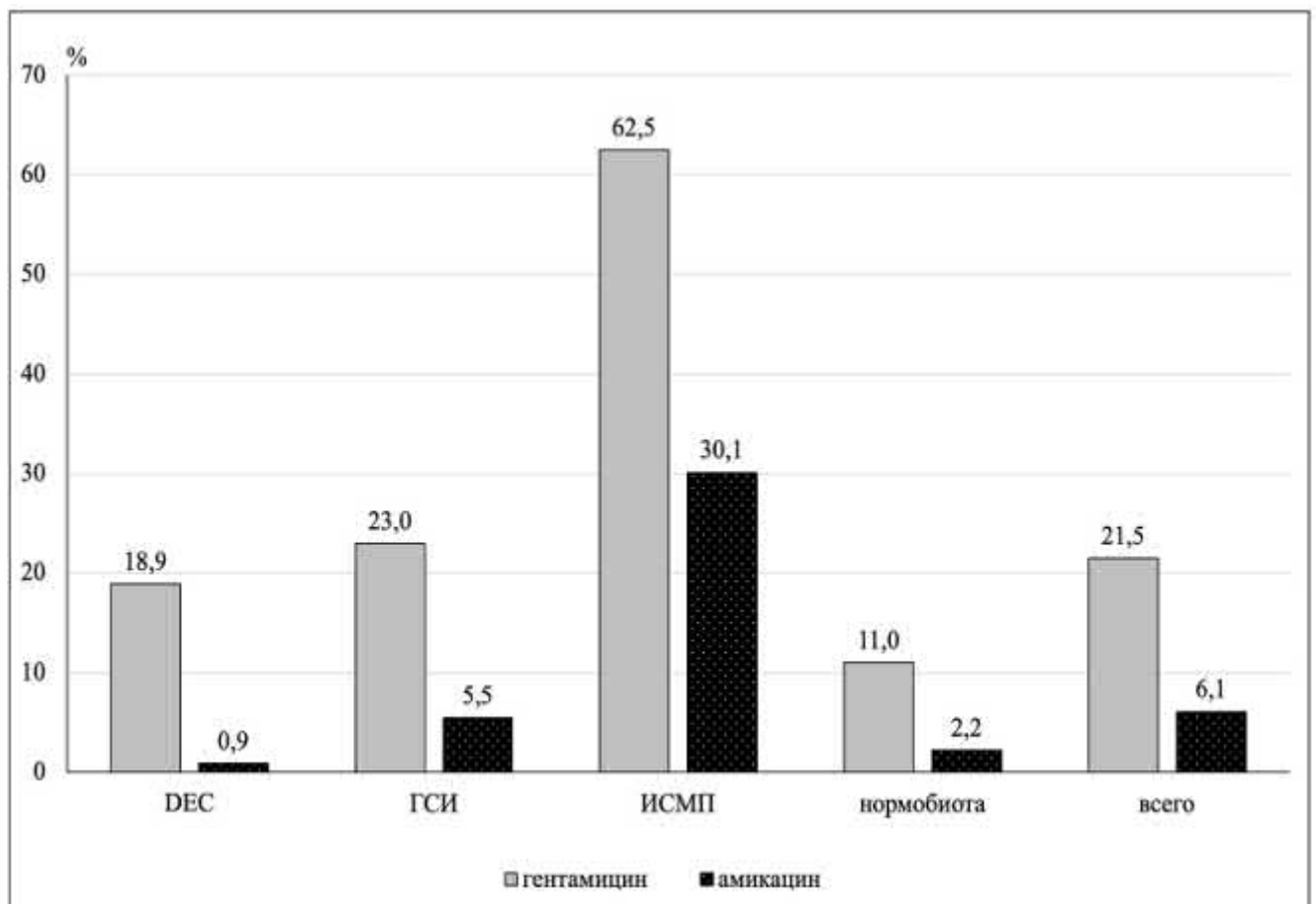


Рисунок 13 – Резистентность к аминогликозидам штаммов *E. coli*

#### 5.2.4 Характеристика резистентности к АМП других классов

Резистентность к тетрациклину, хлорамфениколу, нитрофурантоину, сульфаниламиду и ко-тримоксазолу представлена на рисунке 14.

*Тетрациклины:* в общей популяции изученных штаммов резистентными к тетрациклину были 40,2%. Резистентные штаммы встречались во всех сравниваемых группах: DEC (36,5%), ГСИ (58,8%), ИСМП (72,8%) и нормобиоты (26,9%) соответственно. Статистические различия ( $p < 0,05$ ) выявлены между копроизолятами (DEC и нормобиоты) и штаммами ЕхРЕС (ГСИ и ИСМП). Значимых различий в частоте резистентных штаммов между штаммами DEC и нормобиоты, а также между штаммами возбудителями ГСИ и ИСМП не выявлены ( $p \geq 0,05$ ).

*Хлорамфеникол:* в общей популяции изученных штаммов резистентными были 16,9%. Резистентные штаммы встречались во всех сравниваемых группах: DEC (20,2%), ГСИ (21,2%), ИСМП (38,2%) и нормобиоты (8,2%) соответственно. Значимо реже резистентные штаммы встречались в группе нормобиоты ( $p < 0,05$ ).

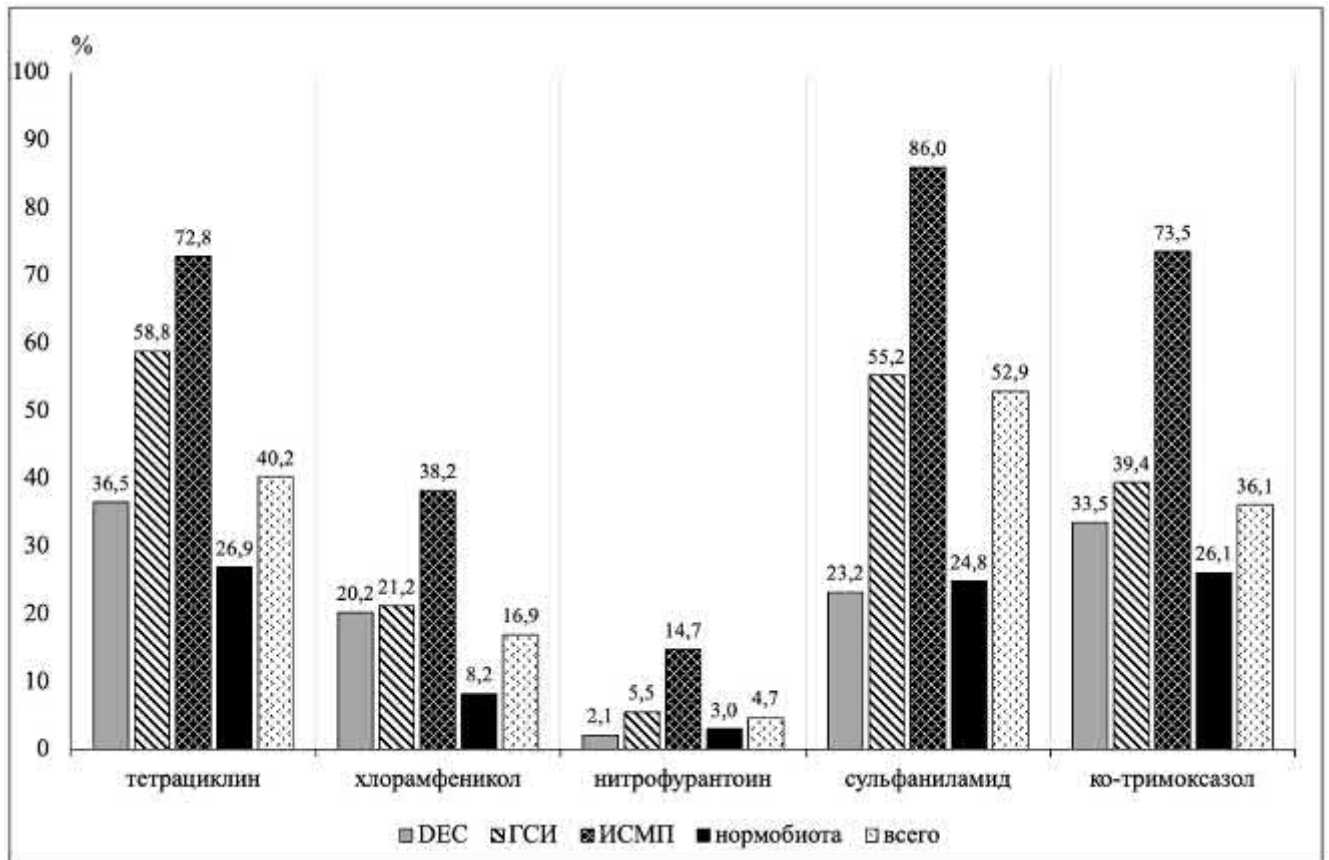


Рисунок 14 – Резистентность к АМП других классов

*Нитрофурантоин*: Резистентность к нитрофурантоину встречалась во всех группах и в общей популяции штаммов *E. coli* составляла 4,7%. Статистически значимо чаще ( $p < 0,05$ ) резистентные штаммы встречались в группе возбудителей ИСМП (14,7%) по сравнению со штаммами других групп: DEC (2,1%), ГСИ (5,5%), а также *E. coli* – представителей нормобиоты (3,0%).

*Сульфаниламиды*: Резистентность к препаратам группы сульфаниламидов и триметоприма встречалась во всех группах и в общей популяции составляла 52,9% и 36,1%, статистически значимо была выражена к сульфаниламиду ( $p < 0,05$ ). Значимых различий в резистентности к этим препаратам в сравниваемых группах выявлено не было. Достоверно ниже ( $p < 0,05$ ) резистентность встречалась в копроизолятах (DEC и нормобиоты) по сравнению со штаммами ExPEC (ГСИ и ИСМП). Среди штаммов ExPEC статистически значимо резистентность к сульфаниламидам и триметоприму встречалась у возбудителей ИСМП ( $p < 0,05$ ).

Следует отметить, что в штаммах возбудителей ИСМП в сравнении со штаммами других групп (DEC, ГСИ, нормобиота) достоверно чаще встречалась резистентность к большинству изученных, включая клинически значимые, АМП ( $\beta$ -лактамы, цефалоспорины III – IV поколения, хинолоны и фторхинолоны, аминогликозиды, хлорамфеникол, сульфаниламид и триметоприм / сульфаметоксазол) за исключением тетрациклина и нитрофурантоина. Резистентные штаммы к препаратам резерва – карбапенемам встречались только в группе возбудителей ИСМП.

### 5.3 Характеристика множественной резистентности

В соответствии с международными критериями, MDR – фенотип (множественная резистентность как минимум к трем различным классам АМП) выявлен у 514 (49,8%) из 1033 изученных штаммов, включая продуцентов БЛРС и карбапенемаз (Рисунок 15). Штаммы с MDR – фенотипом встречались во всех сравниваемых группах, статистически значимо чаще в группе возбудителей ИСМП – 100% (95% ДИ 97,3-100%), по сравнению со штаммами других групп: DEC – 43,8% (95% ДИ 37,3-50,4%), ГСИ – 65,5 % (95% ДИ 57,7-72,7%) и нормобиоты – 33,7% (95% ДИ 29,5-38,0%). Значимых различий в частоте

резистентных штаммов между штаммами DEC и нормобиоты не выявлены ( $p \geq 0,05$ ). В тоже время, значимые различия ( $p < 0,05$ ) выявлены в целом между копроизолятами (DEC и нормобиоты) и штаммами ExPEC (ГСИ и ИСМП).

Доля штаммов с экстремальной резистентностью (XDR – фенотипом) ко всем препаратам, за исключением одного или двух классов АМП, составляла 13,2% (68 штаммов из 514 с MDR-фенотипом). XDR штаммы встречались во всех сравниваемых группах, статистически значимо чаще – в группе возбудителей ИСМП – 32,4% (95% ДИ 24,6-40,9%), по сравнению со штаммами DEC – 6,9% (95%ДИ 2,8-13,6%), ГСИ – 12,0 % (95% ДИ 6,6-19,7%) и нормобиоты – 2,4% (95% ДИ 0,7-6,0%). Достоверных различий в частоте штаммов с XDR – фенотипом не выявлены между штаммами DEC и нормобиоты, ( $p \geq 0,05$ ). В тоже время значимые различия ( $p < 0,05$ ) выявлены в целом между копроизолятами (DEC и нормобиоты) и штаммами ExPEC (ГСИ и ИСМП).

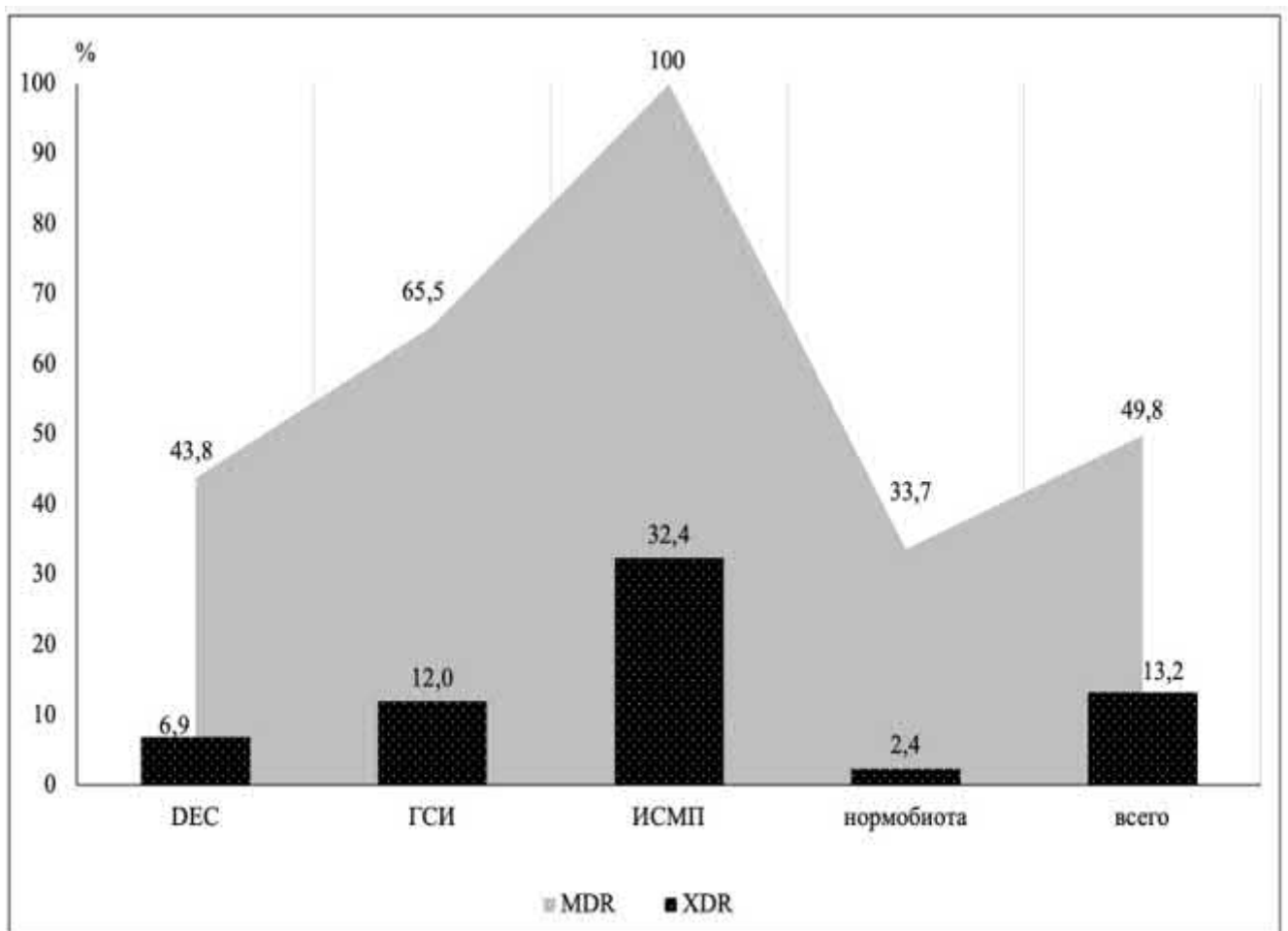


Рисунок 15 – Множественная резистентность к АМП штаммов *E. coli*

## 5.4 Молекулярные механизмы резистентности к $\beta$ - лактамам

В общей популяции изученных штаммов *E.coli* продуценты БЛРС составляли 33,3% (344 штамма), из них возбудителей ИСМП – 100% (136 штаммов), возбудителей ГСИ – 43,0% (71 штамм), DEC – 27,9% (65 штаммов) и представителей нормобиоты кишечника 14,4%, (72 штамма) соответственно.

### 5.4.1 Определение генов $\beta$ - лактамаз у штаммов возбудителей ИСМП

В геномах 136 БЛРС продуцирующих штаммов были выявлены гены  $\beta$ -лактамаз молекулярных классов А, С и D (TEM, SHV, CTX-M, AmpC, OXA). Статистически значимо чаще ( $p<0,05$ ) выявляли гены *bla*<sub>CTX-M</sub> (79,4%) по сравнению с *bla*<sub>TEM</sub> (46,3%), *bla*<sub>OXA</sub> (47,8%), *bla*<sub>SHV</sub> (10,3% ДИ 5,7-16,7%) и *bla*<sub>AmpC</sub> (5,1%) соответственно. Гены  $\beta$  – лактамаз были обнаружены в сочетаниях (от двух до четырех) и изолированно. В таблице 40 представлен спектр  $\beta$  - лактамаз в штаммах *E. coli* – возбудителей ИСМП.

Таблица 40 – Спектры генов  $\beta$  - лактамаз в штаммах *E. coli* – возбудителей ИСМП

| Гены $\beta$ - лактамаз                                                                                         | абс | %    | 95% ДИ    |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|------|-----------|
| Всего <i>bla</i> <sub>CTX-M</sub>                                                                               | 108 | 79,4 | 71,6-85,9 |
| Всего <i>bla</i> <sub>TEM</sub>                                                                                 | 63  | 46,3 | 37,7-55,1 |
| Всего <i>bla</i> <sub>OXA</sub>                                                                                 | 65  | 47,8 | 39,2-56,5 |
| Всего <i>bla</i> <sub>AmpC</sub>                                                                                | 7   | 5,1  | 2,1-10,3  |
| Всего <i>bla</i> <sub>SHV</sub>                                                                                 | 14  | 10,3 | 5,7-16,7  |
| Спектр генов $\beta$ - лактамаз                                                                                 |     |      |           |
| Изолированный                                                                                                   | 54  | 39,7 | 31,4-48,5 |
| <i>bla</i> <sub>CTX-M</sub>                                                                                     | 31  | 22,8 | 16,0-30,8 |
| <i>bla</i> <sub>OXA</sub>                                                                                       | 11  | 8,1  | 4,1-14,0  |
| <i>bla</i> <sub>TEM</sub>                                                                                       | 8   | 5,9  | 2,6-11,3  |
| <i>bla</i> <sub>AmpC</sub>                                                                                      | 2   | 1,5  | 0,2-5,2   |
| <i>bla</i> <sub>SHV</sub>                                                                                       | 2   | 1,5  | 0,2-5,2   |
| Сочетанный                                                                                                      | 82  | 60,3 | 51,5-68,6 |
| <i>bla</i> <sub>CTX-M</sub> + <i>bla</i> <sub>OXA</sub>                                                         | 23  | 16,9 | 11,0-24,3 |
| <i>bla</i> <sub>CTX-M</sub> + <i>bla</i> <sub>TEM</sub>                                                         | 28  | 20,6 | 14,1-28,4 |
| <i>bla</i> <sub>OXA</sub> + <i>bla</i> <sub>TEM</sub>                                                           | 3   | 2,2  | 0,5-6,3   |
| <i>bla</i> <sub>OXA</sub> + <i>bla</i> <sub>AmpC</sub>                                                          | 1   | 0,7  | 0,02-4,0  |
| <i>bla</i> <sub>CTX-M</sub> + <i>bla</i> <sub>OXA</sub> + <i>bla</i> <sub>TEM</sub>                             | 11  | 8,1  | 4,1-14,0  |
| <i>bla</i> <sub>CTX-M</sub> + <i>bla</i> <sub>OXA</sub> + <i>bla</i> <sub>AmpC</sub>                            | 3   | 2,2  | 0,5-6,3   |
| <i>bla</i> <sub>OXA</sub> + <i>bla</i> <sub>TEM</sub> + <i>bla</i> <sub>AmpC</sub>                              | 1   | 0,7  | 0,02-4,0  |
| <i>bla</i> <sub>CTX-M</sub> + <i>bla</i> <sub>OXA</sub> + <i>bla</i> <sub>TEM</sub> + <i>bla</i> <sub>SHV</sub> | 12  | 8,8  | 4,6-14,9  |

У большинства штаммов 82 (60,3%) были выявлены восемь сочетаний генов  $\beta$  – лактамаз, изолированно у 54 (39,7%) штаммов. Максимальные доли штаммов, имеющие несколько генов БЛРС, были представлены комбинациями: двух генетических детерминант  $bla_{CTX-M}+bla_{TEM}$  (20,6%) и  $bla_{CTX-M}+bla_{OXA}$  (16,9%); трех –  $bla_{CTX-M}+bla_{OXA}+bla_{TEM}$  (8,1%) и четырех –  $bla_{CTX-M}+bla_{OXA}+bla_{TEM}+bla_{SHV}$  (8,8%).

Статистически значимо чаще ( $p < 0,05$ ) геном одного типа БЛРС был  $bla_{CTX-M}$  (22,8%) по сравнению с генами других  $\beta$ - лактамаз:  $bla_{OXA}$  (8,1%),  $bla_{TEM}$  (5,9%),  $bla_{AmpC}$  и  $bla_{SHV}$  (1,5%) соответственно. Обнаруженные гены  $bla_{CTX-M}$  принадлежали к четырем кластерам. Значимо чаще превалировал ген кластера  $bla_{CTX-M1}$  – 72,2% (95% ДИ 62,8-80,4%) по сравнению с генами других кластеров:  $bla_{CTX-M9}$  – 20,4% (95% ДИ 13,2-29,2%),  $bla_{CTX-M2}$  – 2,8% (95% ДИ 0,6-7,9%) и  $bla_{CTX-M8/25}$  – 4,6% (95% ДИ 1,5-10,5%) соответственно. Доминирующим вариантом СТХ-М группы 1 был СТХ-М-15 (82,5%), который часто ассоциируют с пандемическим клоном *E. coli* O25 ST131, относящимся к высоковирулентной филогенетической группе B2, с которым в течение последних двух десятилетий связано появление эпидемических внутрибольничных вспышек во многих странах [105, 146, 162, 186, 222, 223]. У двух штаммов продуцентов карбапенемаз выявлены гены металло-  $\beta$ - лактамаз группы NDM в комбинации с СТХ-М-15.

#### 5.4.2 Определение генов $\beta$ – лактамаз у штаммов DEC

БЛРС – продуцирующие 65 (27,9%) штаммов DEC включали 45 (69,2%)-EAgEC, 13 (20,0%) – EPEC, 5 (7,7%) – EHEC, 2 (3,1%) – EIEC. Среди ETEC продуцентов БЛРС выделено не было. В таблице 41 представлено распределение генов  $\beta$ - лактамаз в штаммах DEC.

Были выявлены гены  $\beta$ - лактамаз молекулярных классов A, C и D (TEM, SHV, CTX-M, AmpC, OXA). Статистически значимо чаще ( $p < 0,05$ ) выявляли гены  $bla_{CTX-M}$  (76,9%) по сравнению с другими генами: TEM и  $bla_{SHV}$  (27,7%),  $bla_{AmpC}$  (13,8%),  $bla_{OXA}$  (1,5%) соответственно.

Гены  $\beta$  – лактамаз были обнаружены в сочетаниях и изолированно. У 19 (29,2%) штаммов были выявлены четыре сочетания  $bla$  генов, изолированно у 46 (70,8%) штаммов. Максимальные доли штаммов, характеризующихся наличием

Таблица 41 – Распределение генов  $\beta$ - лактамаз в штаммах диареегенных *E. coli*

| Гены $\beta$ - лактамаз                                                                                          | абс | %    | 95% ДИ    |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|------|-----------|
| Всего <i>bla</i> <sub>CTX-M</sub>                                                                                | 50  | 76,9 | 64,8-86,5 |
| Всего <i>bla</i> <sub>TEM</sub>                                                                                  | 18  | 27,7 | 17,3-40,2 |
| Всего <i>bla</i> <sub>AmpC</sub>                                                                                 | 9   | 13,8 | 6,5-24,7  |
| Всего <i>bla</i> <sub>SHV</sub>                                                                                  | 18  | 27,7 | 17,3-40,2 |
| Всего <i>bla</i> <sub>OXA</sub>                                                                                  | 1   | 1,5  | 0,0-8,3   |
| Спектр генов $\beta$ - лактамаз                                                                                  |     |      |           |
| Изолированный                                                                                                    | 46  | 70,8 | 58,2-81,4 |
| <i>bla</i> <sub>CTX-M</sub>                                                                                      | 31  | 47,7 | 35,2-60,5 |
| <i>bla</i> <sub>TEM</sub>                                                                                        | 7   | 10,8 | 4,4-20,9  |
| <i>bla</i> <sub>AmpC</sub>                                                                                       | 4   | 6,2  | 1,7-15,0  |
| <i>bla</i> <sub>SHV</sub>                                                                                        | 4   | 6,2  | 1,7-15,0  |
| Сочетанный                                                                                                       | 19  | 29,2 | 18,6-41,8 |
| <i>bla</i> <sub>CTX-M</sub> + <i>bla</i> <sub>TEM</sub>                                                          | 5   | 7,7  | 2,5-17,1  |
| <i>bla</i> <sub>CTX-M</sub> + <i>bla</i> <sub>SHV</sub>                                                          | 8   | 12,3 | 5,5-22,8  |
| <i>bla</i> <sub>CTX-M</sub> + <i>bla</i> <sub>OXA</sub> + <i>bla</i> <sub>TEM</sub> + <i>bla</i> <sub>SHV</sub>  | 1   | 1,5  | 0,0-8,3   |
| <i>bla</i> <sub>CTX-M</sub> + <i>bla</i> <sub>SHV</sub> + <i>bla</i> <sub>TEM</sub> + <i>bla</i> <sub>AmpC</sub> | 5   | 7,7  | 2,5-17,1  |

нескольких генов, были представлены сочетанием: двух *bla*<sub>CTX-M</sub> + *bla*<sub>SHV</sub> (12,3%) и четырех *bla*<sub>CTX-M</sub> + *bla*<sub>SHV</sub> + *bla*<sub>TEM</sub> + *bla*<sub>AmpC</sub> (7,7%) генетических детерминант.

Статистически значимо ( $p < 0,05$ ) единственным геном одного типа БЛРС был *bla*<sub>CTX-M</sub> (47,7%) по сравнению с генами других  $\beta$ - лактамаз: *bla*<sub>TEM</sub> (10,8%), *bla*<sub>AmpC</sub> и *bla*<sub>SHV</sub> (6,2%) соответственно. Обнаруженные гены *bla*<sub>CTX-M</sub> принадлежали к двум кластерам, из которых превалировал ( $p < 0,05$ ) *bla*<sub>CTX-M9</sub> – 82,0% (95%ДИ 68,6-91,4%) по сравнению с *bla*<sub>CTX-M1</sub> – 18,0% (95%ДИ 8,6-31,4%).

#### 5.4.3 Определение генов $\beta$ - лактамаз у штаммов *E. coli* – возбудителей ГСИ

Продуцентами БЛРС были 71 (43,0 %) штамм ExPEC, из них 52 (52,0%) уропатогенных (UPEC), выделенных из проб мочи, и 19 (29,2%) интраабдоминальных (IAEC), выделенных из проб перитонеальной жидкости. В геномах UPEC выявлены гены  $\beta$  – лактамаз двух молекулярных классов А и D (TEM, SHV, CTX-M, OXA), в геномах IAEC – одного молекулярного класса А (TEM, SHV, CTX-M). Ни у одного штамма ExPEC гены  $\beta$  – лактамаз молекулярного класса С (AmpC) не выявлены.

По суммарным данным статистически значимо чаще ( $p < 0,05$ ) выявляли



гены *bla*<sub>CTX-M</sub> (90,1%) по сравнению с генами других БЛРС: *bla*<sub>TEM</sub> (40,8%), *bla*<sub>SHV</sub> (11,3%) и *bla*<sub>OXA</sub> (8,5%). Частота генов β – лактамаз в штаммах UPEC составляла: *bla*<sub>CTX-M</sub> (94,2%), *bla*<sub>TEM</sub> (44,2%), *bla*<sub>SHV</sub> (13,5%) и *bla*<sub>OXA</sub> (11,5%); штаммов IAEC *bla*<sub>CTX-M</sub> (78,9%), *bla*<sub>TEM</sub> (31,6%), *bla*<sub>SHV</sub> (5,3%), статистически значимых различий в сравниваемых группах выявлено не было ( $p > 0,05$ ). В таблице 42 представлен спектр генов β – лактамаз в штаммах *E. coli* – возбудителей ГСИ. По суммарным данным, гены исследуемых типов β – лактамаз в несопоставимых долях были обнаружены в сочетаниях (36,6%) и изолированно (63,4%).

У 23 (44,2%) штаммов UPEC были выявлены пять сочетаний генов разных классов и типов β- лактамаз, изолированно – 54 (55,8%) штаммов. Максимальные доли штаммов, имеющих сочетания генов были представлены комбинациями: двух генетических детерминант одного молекулярного класса *bla*<sub>CTX-M</sub>+*bla*<sub>TEM</sub> (23,1%) и трех генетических детерминант двух молекулярных классов *bla*<sub>CTX-M</sub>+*bla*<sub>TEM</sub>+*bla*<sub>OXA</sub> (9,6%). Четыре комбинации генов – *bla*<sub>CTX-M</sub>+*bla*<sub>OXA</sub>+*bla*<sub>TEM</sub>+*bla*<sub>SHV</sub>, принадлежащих различным типам и классам БЛРС, были выявлены у одного штамма UPEC. Изолированные гены БЛРС относились к одной функциональной группе молекулярного класса А. Ведущим статистически значимо ( $p < 0,05$ ) геном был *bla*<sub>CTX-M</sub> (50,0%) по сравнению с генами других β – лактамаз: *bla*<sub>TEM</sub> (3,8%) и *bla*<sub>SHV</sub> (1,9%) соответственно.

У трех штаммов IAEC сочетание генов было представлено комбинацией генетических детерминант, принадлежащих к одной функциональной группе молекулярного класса А *bla*<sub>CTX-M</sub>+*bla*<sub>TEM</sub> (15,8%). Изолированные гены БЛРС, также, как и штаммов UPEC, относились к одной функциональной группе молекулярного класса А. Ведущим статистически значимо ( $p < 0,05$ ) геном был *bla*<sub>CTX-M</sub> (63,2%) по сравнению с другими генами β- лактамаз: *bla*<sub>TEM</sub> (15,8%) и *bla*<sub>SHV</sub> (5,3%) соответственно. Гены *bla*<sub>CTX-M</sub>, обнаруженные у штаммов ExPEC, принадлежали к двум кластерам *bla*<sub>CTX-M1</sub> и *bla*<sub>CTX-M9</sub>. Наиболее распространенными были гены кластера *bla*<sub>CTX-M1</sub> (73,7%). Гены кластеров *bla*<sub>CTX-M2</sub>, *bla*<sub>CTX-M8</sub> и *bla*<sub>CTX-M25</sub> обнаружены не были.

Таблица 42 – Распределение генов  $\beta$  - лактамаз в штаммах ExPEC

| Гены $\beta$ - лактамаз                                                                                         | Штаммы ExPEC |      |           |             |      |           |              |      |           |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------|------|-----------|-------------|------|-----------|--------------|------|-----------|
|                                                                                                                 | UPEC (n=52)  |      |           | IAEC (n=19) |      |           | Всего (n=71) |      |           |
|                                                                                                                 | абс          | %    | 95% ДИ    | абс         | %    | 95%ДИ     | абс          | %    | 95%ДИ     |
| Всего <i>bla</i> <sub>CTX-M</sub>                                                                               | 49           | 94,2 | 84,1-98,8 | 15          | 78,9 | 54,4-93,6 | 64           | 90,1 | 80,7-95,9 |
| Всего <i>bla</i> <sub>TEM</sub>                                                                                 | 23           | 44,2 | 30,5-58,7 | 6           | 31,6 | 12,6-56,6 | 29           | 40,8 | 29,3-53,2 |
| Всего <i>bla</i> <sub>SHV</sub>                                                                                 | 7            | 13,5 | 5,6-25,8  | 1           | 5,3  | 0,1-26,0  | 8            | 11,3 | 5,0-21,0  |
| Всего <i>bla</i> <sub>OXA</sub>                                                                                 | 6            | 11,5 | 4,4-23,4  |             |      |           | 6            | 8,5  | 3,2-17,5  |
| Спектр генов $\beta$ - лактамаз                                                                                 |              |      |           |             |      |           |              |      |           |
| Изолированный                                                                                                   | 29           | 55,8 | 41,3-69,5 | 16          | 84,2 | 60,4-96,6 | 45           | 63,4 | 51,1-74,5 |
| <i>bla</i> <sub>CTX-M</sub>                                                                                     | 26           | 50,0 | 35,8-64,2 | 12          | 63,2 | 38,4-83,7 | 38           | 53,5 | 41,3-65,5 |
| <i>bla</i> <sub>TEM</sub>                                                                                       | 2            | 3,8  | 0,5-13,2  | 3           | 15,8 | 3,4-39,6  | 5            | 7,0  | 2,3-15,7  |
| <i>bla</i> <sub>SHV</sub>                                                                                       | 1            | 1,9  | 0,1-10,3  | 1           | 5,3  | 0,1-26,0  | 2            | 2,8  | 0,3-9,8   |
| Сочетанный                                                                                                      | 23           | 44,2 | 30,5-58,7 | 3           | 15,8 | 3,4-39,6  | 26           | 36,6 | 25,5-48,9 |
| <i>bla</i> <sub>CTX-M</sub> + <i>bla</i> <sub>TEM</sub>                                                         | 12           | 23,1 | 12,5-36,8 | 3           | 15,8 | 3,4-39,6  | 15           | 21,2 | 12,3-32,4 |
| <i>bla</i> <sub>CTX-M</sub> + <i>bla</i> <sub>SHV</sub>                                                         | 2            | 3,8  | 0,5-13,2  |             |      |           | 2            | 2,8  | 0,3-9,8   |
| <i>bla</i> <sub>CTX-M</sub> + <i>bla</i> <sub>TEM</sub> + <i>bla</i> <sub>SHV</sub>                             | 3            | 5,8  | 1,2-16,0  |             |      |           | 3            | 4,2  | 0,9-11,9  |
| <i>bla</i> <sub>CTX-M</sub> + <i>bla</i> <sub>TEM</sub> + <i>bla</i> <sub>OXA</sub>                             | 5            | 9,6  | 3,2-21,0  |             |      |           | 5            | 7,0  | 2,3-15,7  |
| <i>bla</i> <sub>CTX-M</sub> + <i>bla</i> <sub>OXA</sub> + <i>bla</i> <sub>TEM</sub> + <i>bla</i> <sub>SHV</sub> | 1            | 1,9  | 0,1-10,3  |             |      |           | 1            | 1,4  | 0,0-7,6   |

Целенаправленный поиск среди штаммов ExPEC широко распространенного пандемического клона ST 131, ответственного за большую долю инфекций мочевыводящих путей и кровотока, выявил 23 штамма, из них 17 – уропатогенных и 6 – интраабдоминальных.

#### 5.4.4 Определение генов $\beta$ - лактамаз у штаммов *E. coli* – представителей нормобиоты кишечника

В геномах 72 БЛРС положительных штаммов были выявлены гены  $\beta$ -лактамаз, относящиеся к двум функциональным группам молекулярного класса А и D (TEM, CTX-M, OXA). Гены *bla*<sub>AmpC</sub> и *bla*<sub>SHV</sub> выявлены не были.

Статистически значимо чаще ( $p < 0,05$ ) преобладали гены *bla*<sub>CTX-M</sub> (86,1%) по сравнению с генами других функциональных групп и типов: *bla*<sub>TEM</sub> (43,1%) и *bla*<sub>OXA</sub> (6,9%). В таблице 43 представлено распределение генов  $\beta$  – лактамаз в штаммах *E. coli* – представителей нормобиоты кишечника. Гены трех типов  $\beta$  – лактамаз (TEM, OXA, CTX-M) были представлены изолированно и в сочетаниях. Статистически значимо ( $p < 0,05$ ) больше штаммов – 51 (70,8%) характеризовалось изолированным присутствием генов  $\beta$ - лактамаз, сочетание генетических детерминант БЛРС было выявлено у 21(29,2%).

Таблица 43 – Распределение генов  $\beta$  - лактамаз в штаммах *E. coli* - представителей нормобиоты кишечника

| Гены $\beta$ - лактамаз                                                             | абс | %    | 95% ДИ    |
|-------------------------------------------------------------------------------------|-----|------|-----------|
| Всего <i>bla</i> <sub>CTX-M</sub>                                                   | 62  | 86,1 | 75,9-93,1 |
| Всего <i>bla</i> <sub>TEM</sub>                                                     | 31  | 43,1 | 31,4-55,3 |
| Всего <i>bla</i> <sub>OXA</sub>                                                     | 5   | 6,9  | 2,3-15,5  |
| Спектр генов $\beta$ - лактамаз                                                     |     |      |           |
| Изолированный                                                                       | 51  | 70,8 | 58,9-81,0 |
| <i>bla</i> <sub>CTX-M</sub>                                                         | 41  | 56,9 | 44,7-68,6 |
| <i>bla</i> <sub>TEM</sub>                                                           | 10  | 13,9 | 6,9-24,1  |
| Сочетанный                                                                          | 21  | 29,2 | 19,1-41,1 |
| <i>bla</i> <sub>CTX-M</sub> + <i>bla</i> <sub>TEM</sub>                             | 16  | 22,2 | 13,3-33,6 |
| <i>bla</i> <sub>CTX-M</sub> + <i>bla</i> <sub>TEM</sub> + <i>bla</i> <sub>OXA</sub> | 5   | 6,9  | 2,3-15,5  |

Сочетания генов были представлены комбинациями: двух генетических детерминант одного молекулярного класса  $bla_{CTX-M}+bla_{TEM}$  (22,2%) и трех генетических детерминант двух молекулярных классов  $bla_{CTX-M}+bla_{TEM}+bla_{OXA}$  (6,9%). Изолированные гены БЛРС относились к одной функциональной группе молекулярного класса А. Ведущим статистически значимо ( $p < 0,05$ ) геном был  $bla_{CTX-M}$  (56,9%) по сравнению с  $bla_{TEM}$  (13,9%). Гены  $bla_{CTX-M}$  принадлежали к двум кластерам  $bla_{CTX-M1}$  и  $bla_{CTX-M9}$ . Наиболее распространенными были гены кластера  $bla_{CTX-M1}$  (81,1%).

Полученные результаты изучения штаммов *E. coli*, выделенных по различным клинико-эпидемиологическим показаниям (ОКИ, ГСИ, ИСМП) и от здоровых лиц, свидетельствуют о широком распространении резистентности к большинству АМП и высоком уровне резистентности к цефалоспорином III-IV поколения, за счет ведущего механизма – продукции БЛРС идентичных классов CTX-M. В отношении всей популяции *E. coli* наибольшую активность показали меропенем (99,8%), амикацин (93,9%) и нитрофурантоин (95,3%).

Приведенные данные демонстрируют необходимость проведения постоянного мониторингового контроля за резистентностью *E. coli*, вне зависимости от патологического процесса. Использование молекулярных методов способствует эффективному надзору за распространением резистентных штаммов, имеющих тенденцию к широкому распространению в условиях стационара. Установлено, что 14,4% штаммов, входящих в состав микробиоты кишечника здоровых лиц, являются продуцентами БЛРС. У 29,2% пациентов развитие флегмонозных аппендицитов было обусловлено БЛРС продуцирующими штаммами *E. coli*, что имеет отрицательное прогностическое значение развития ИОХВ. Скрининг пациентов при поступлении в стационар на носительство таких штаммов позволит организовывать разграничительные мероприятия, а также, выбирать АМП с активностью в отношении БЛРС-продуцирующих штаммов.

## ГЛАВА 6 ОШИБКИ ИДЕНТИФИКАЦИИ ШТАММОВ *ESCHERICHIA COLI* СЕРОЛОГИЧЕСКИХ ГРУПП O6, O25 и O144

В заключительной главе на примере *E. coli* трех серологических групп (O6, O25 и O144) приводятся ошибки постаналитического этапа лабораторного исследования при обосновании этиологической значимости выделенных штаммов как возбудителей ОКИ эшерихиозной этиологии.

Изучены 666 штаммов *E. coli* трех серологических групп O6 (380 штаммов), O25 (27 штаммов) и O144 (259 штаммов), выделенных из проб испражнений детей и взрослых, обследованных по эпидемическим показаниям (контактные в очагах ОКИ, декретированные лица), присланные в 2014 – 2017 гг. в ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера для подтверждения принадлежности к DEC. В практических микробиологических лабораториях выделение *E. coli* O6, O25 и O144 проводилось бактериологическим методом (посев проб испражнений на питательные среды), видовая и серологическая идентификация штаммов включала определение ферментативных свойств и серологической группы (в реакции агглютинации с отечественными диагностическими эшерихиозными ОК – поливалентными и типовыми сыворотками). Принадлежность к конкретной патогруппе DEC (EPEC, ETEC, ENEC, EIEC, EAgEC) современными молекулярными методами не проводилась.

Реидентификация по культурально – ферментативным и O – антигенной характеристикам подтвердила принадлежность всех штаммов к виду *E. coli* и соответствующим O серогруппам O6, O25 и O144. Все штаммы типично росли на дифференциально-диагностических средах в виде лактозоположительных колоний, характеризовались подвижностью. Методом MALDI-TOF штаммы идентифицированы как *E. coli*. Штаммы *E. coli* O6, O25 и O144 давали выраженную агглютинацию с моновалентными ОК сыворотками и иммуноглобулинами O6:K15, O25:K11 и O144:K- соответственно. Наши результаты полностью совпали с результатами идентификации штаммов, проведенной врачами бактериологами практических лабораторий. Детекция O –

антигенов серологических групп O6, O25 и O144 не представляла сложностей.

Известно, что штаммы *E. coli* O6 и O25 по антигенной структуре представляют гетерогенные серологические группы, представленные десятью и более серологическими вариантами. В зависимости от набора генов, кодирующих факторы патогенности, штаммы *E. coli* O6 и O25 могут относиться к DEC и EхPEC. Как возбудители ОКИ к патогруппе ETEC принадлежат *E. coli* O6:H16 и O25:H-, O25:H20, O25:H42, к патогруппе STEC принадлежат O6:H8, O6:H10, O6:H28, O6:H49 и O25:H2, O25:H5, O25:H19, O25:H21 [124, 125, 188, 226, 239, 315, 343]. К EхPEC, как правило, UPEC относят *E. coli* O6:H-, O6:H1, O6:H5, O6:H6, O6:H7, O6:H10, O6:H12, O6:H31, O6:H33, O6:H36 и O25:H1, O25:H4, O25:H6, O25:H12, O25:H30 [161, 221, 293, 310]. К непатогенным сероварам *E. coli* принадлежат O6:H4, O6:H21 и O25:H45. *E. coli* O6:K5:H1 известный как Nissle 1917 является пробиотическим штаммом [197, 198].

Популяция штаммов *E. coli* O144 неоднородна по значительному числу ферментативных свойств, среди них встречаются неподвижные (H-) и подвижные варианты с H антигенами 4, 18 и 25. К возбудителям ОКИ патогруппе EIEC, принадлежат штаммы двух серологических вариантов O144:H18 и O144:H25, которые вызывают заболевания, напоминающие по клинике шигеллезы, и характеризуются наличием хромосомного (*ipaH*) и плазмидного (*ial*) генов, кодирующих фактор инвазии, характерный для *Shigella* spp. И EIEC. Штаммы *E. coli* O144:H4 и O144:H-, циркулирующие в 1998-2005 гг. в Санкт-Петербурге, Ленинградской области, Вологде и Перми, не имели факторов вирулентности EIEC и часто выделялись от практически здоровых лиц разных возрастных групп, обследованных с профилактической целью.

Результаты молекулярного серотипирования показали, что:

- штаммы *E. coli* O6 содержали ген *rfb*<sub>6</sub>, наличие которого подтверждало принадлежность их к серологической группе O6, по анализу H-типирования принадлежали к трем сероварам: - 338 штаммов имели ген *fliC*<sub>1</sub>, кодирующий синтез H – антиген 1 (O6:H1), из них 57,4% содержали K5 антиген (O6:K5:H1); - 33 штамма имели ген *fliC*<sub>5</sub>, кодирующий синтез H – антигена 5 (O6:H5), из них

54,5% содержали K5 антиген (O6:K5:H5); - девять неподвижных штаммов *E. coli* O6:H- имели ген *fliC*<sub>7</sub>, кодирующий синтез H – антиген 7 (O6:H7);

- штаммы *E. coli* O25 содержали гены *rfb*<sub>25</sub> и *fliC*<sub>4</sub> наличие которых определило их принадлежность к серовару O25:H4;
- штаммы *E. coli* O144 содержали ген *rfb*<sub>144</sub>, наличие которого подтверждало их принадлежность к серогруппе O144, фенотипически были неподвижные и принадлежали к сероварианту O144:H-:F45 (имели *fliC*<sub>45</sub> по результатам WGS).

Филогенетический анализ показал, что все штаммы *E. coli* O6 и *E. coli* O25 принадлежат к филогенетической группе B2, к которой относят ExPEC, *E. coli* O144:H- принадлежали к филогенетической группе A, с которой, как правило, ассоциируют непатогенные (резидентные) штаммы *E. coli*.

**Детекция генов, кодирующих факторы вирулентности патогрупп DEC – возбудителей ОКИ.** Ни один из изученных штаммов *E. coli* O6 (O6:H1, O6:H5, O6:H7), O25 (O25:H4) и O144 (O144:H45) не имели детерминант вирулентности известных патогрупп (EPEC, ETEC, STEC, EIEC, EAgEC) DEC. Отсутствие генов, кодирующих факторы вирулентности DEC, свидетельствует о том, что штаммы не являются возбудителями ОКИ.

**Детекция генов, кодирующих факторы вирулентности ExPEC.** Тестирование штаммов *E. coli* O6 (O6:H1, O6:H5, O6:H7) и O25 (O25:H4) на наличие 11 генов вирулентности ExPEC выявило девять генов в различных комбинациях, кодирующих адгезию (гены: *pap*, *fimH*, *sfa*, *afa*), продукцию токсинов (гены: *hlyA*, *cnf*), сидерофоров (гены: *fyuA*, *chu*, *iutA*) и остров патогенности UPEC CFT073 (*PAI*). Ген (*ibeA*), кодирующий фактор инвазии SEPEC и NMEC, не выявлен ни у одного из изученных штаммов. У штаммов *E. coli* O144:H45 не был выявлен ни один из одиннадцати тестируемых генов ExPEC. Молекулярно-генетическая характеристика штаммов *E. coli* O6 и *E. coli* O25 представлена в таблице 44.

Анализ присутствия генов, ответственных за синтез адгезинов, показал, что практически все штаммы *E. coli* O6 и *E. coli* O25 содержали ген *fimH*, кодирующий маннозочувствительные фимбрии тип 1 (95,0 и 100% соответственно). Ген *pap*, кодирующий пиелонефрит-ассоциированные пили, был выявлен у 78,9% *E. coli*

Таблица 44 – Гены, кодирующие факторы вирулентности *E. coli* O6 и *E. coli* O25

| Факторы вирулентности | Гены        | <i>E. coli</i> O6<br><i>n</i> =380 |      | 95% ДИ    | <i>E. coli</i> O25<br><i>n</i> =27 |      | 95% ДИ    |
|-----------------------|-------------|------------------------------------|------|-----------|------------------------------------|------|-----------|
|                       |             | абс                                | %    |           | абс                                | %    |           |
| адгезия               | <i>fimH</i> | 361                                | 95,0 | 92,3-96,9 | 27                                 | 100  | 87,2-100  |
|                       | <i>sfa</i>  | 270                                | 71,1 | 66,2-75,6 | 0                                  | 0,0  | 0-12,8    |
|                       | <i>afa</i>  | 12                                 | 3,2  | 1,6-5,5   | 6                                  | 22,2 | 8,6-42,3  |
|                       | <i>rap</i>  | 300                                | 78,9 | 74,5-82,9 | 18                                 | 66,7 | 46,0-83,5 |
| токсины               | <i>hly</i>  | 270                                | 71,1 | 66,2-75,6 | 12                                 | 44,4 | 25,5-64,7 |
|                       | <i>cnf</i>  | 265                                | 69,7 | 64,9-74,3 | 12                                 | 44,4 | 25,5-64,7 |
| система усвоения Fe   | <i>iutA</i> | 174                                | 45,8 | 40,7-50,9 | 27                                 | 100  | 87,2-100  |
|                       | <i>fyuA</i> | 274                                | 72,1 | 67,3-76,6 | 27                                 | 100  | 87,2-100  |
|                       | <i>chu</i>  | 374                                | 98,4 | 96,6-99,4 | 27                                 | 100  | 87,2-100  |
| остров патогенности   | <i>PAI</i>  | 271                                | 71,3 | 66,5-75,8 | 27                                 | 100  | 87,2-100  |

O6 и 66,7% *E. coli* O25, ген *sfa*, кодирующий S-фимбрии содержали только *E. Coli* O6 (87,6%). Кодирующий афимбриальные адгезины ген *afa* присутствовал у 3,2% штаммов *E. coli* O6 и 22,2% *E. coli* O25. Ген *cnf*, ответственный за продукцию цитонекротического фактора, значимо чаще ( $p < 0,05$ ) встречался у штаммов *E. coli* O6 (69,7%), по сравнению со штаммами *E. coli* O25 (44,4%), ген *hly*, кодирующий продукцию  $\alpha$ -гемолизина, без значимых различий встречался у 71,1% и 44,4% штаммов. Ассоциированные с персистенцией возбудителя в организме человека (сидерофоры) гены *iutA*, *fyuA* (аэробактин, иерсинибактин), *chu* (гемин), содержали все штаммы *E. coli* O25 (100%), и в различных комбинациях все штаммы *E. coli* O6 (*chu* – 98,4%, *fyuA*-72,1%, *iutA*- 45,8%). Ген острова патогенности (*PAI*) был выявлен у 71,3% штаммов *E. coli* O6 и 100% штаммов *E. coli* O25. Популяции *E. coli* O6 (O6:H1, O6:H5, O6:H7) и *E. coli* O25 (O25:H4) гетерогенны по набору генов вирулентности. Штаммы *E. coli* O6 содержали от пяти до девяти генов: 7,1% (27 штаммов) содержали пять генов, 47 (12,4%) – шесть генов, 59 (15,5%) – семь генов, 94 (24,7%) – восемь генов и 153 (40,3%) – девять генов соответственно. Суммарно более 90% штаммов содержали от шести до девяти генов вирулентности. В популяции *E. coli* O25:H4 12 штаммов (44,4%) содержали пять генов, 12 штаммов (44,4%) – семь генов, 3 штамма (11,2%) – восемь генов вирулентности.



**Чувствительность штаммов *E. coli* O6 и *E. coli* O25 к АМП.** 55,0% штаммов *E. coli* O6 были чувствительны ко всем тестируемым АМП, в отличие от *E. coli* O25, среди которых сохранялась чувствительность только к карбапенемам (меропенему) и нитрофуранам. Статистически значимо чаще резистентность к тестируемым АМП встречалась у штаммов *E. coli* O25 (Таблица 45). Среди изученных *E. coli* O6, наибольшая доля чувствительных штаммов отмечена к аминогликозидам (амикацину и гентамицину) – 2,5% и 4,5%, и фторхинолонам (ципрофлоксацину) – 4,2% нечувствительных штаммов соответственно, среди *E. coli* O25 – к аминогликозидам (амикацину – 77,8%, гентамицину – 66,7%).

Таблица 45 – Штаммы *E. coli* O6 и *E. coli* O25, нечувствительные к АМП

| Антимикробный препарат         | <i>E. coli</i> O6, n=380 |      |           | <i>E. coli</i> O25, n=27 |      |           |
|--------------------------------|--------------------------|------|-----------|--------------------------|------|-----------|
|                                | абс                      | %    | 95% ДИ    | абс                      | %    | 95% ДИ    |
| ампициллин                     | 149                      | 39,2 | 34,3-44,3 | 27                       | 100  | 87,2-100  |
| амоксиклав / клавуланат        | 72                       | 18,9 | 15,1-23,3 | 18                       | 66,7 | 46,0-83,5 |
| цефтазидим                     | 48                       | 12,6 | 9,5-16,4  | 15                       | 55,6 | 35,3-74,5 |
| цефотаксим                     | 65                       | 17,1 | 13,5-21,3 | 24                       | 88,9 | 70,8-97,7 |
| цефепим                        | 51                       | 13,4 | 10,2-17,3 | 21                       | 77,8 | 57,7-91,4 |
| меропенем                      | 0                        | 0    | 0-1,0     | 0                        | 0    | 0-12,8    |
| налидиксовая кислота           | 31                       | 8,2  | 5,6-11,4  | 21                       | 77,8 | 57,7-91,4 |
| ципрофлоксацин                 | 16                       | 4,2  | 2,4-6,8   | 21                       | 77,8 | 57,7-91,4 |
| гентамицин                     | 17                       | 4,5  | 2,6-7,1   | 9                        | 33,3 | 16,5-53,9 |
| амикацин                       | 4                        | 2,5  | 0,3-2,7   | 6                        | 22,2 | 8,6-42,3  |
| нитрофурантоин                 | 0                        | 0    | 0-1,0     | 0                        | 0    | 0-12,8    |
| триметоприм / сульфаметоксазол | 32                       | 8,4  | 5,8-11,7  | 12                       | 44,4 | 25,5-64,7 |

Устойчивость к β-лактамам встречалась практически у всех изученных нечувствительных штаммов. Наиболее выражена была к аминопенициллинам – 39,2% *E. coli* O6 и 100% *E. coli* O25. Резистентность к амоксициллин / клавуланату отмечена у 18,9% *E. coli* O6 и 66,7% *E. coli* O25. Цефалоспорины III-IV поколения (цефтазидим, цефотаксим, цефепим) характеризовались активностью в отношении более 80% штаммов *E. coli* O6. Среди штаммов *E. coli* O25

резистентность к варьировала от 55,6% к цефтазидиму, 77,8% к цефепиму, 88,9% к цефотаксиму. Продукция БЛРС была выявлена у 17,1% штаммов *E. coli* O6 и 100% *E. coli* O25. У всех БЛРС продуцирующих штаммов, детектированы *bla* гены группы CTX-M. У штаммов *E. coli* O6 гены *bla*<sub>CTX-M</sub> принадлежали к трём кластерам. Наиболее распространенными были *bla*<sub>CTX-M1</sub> (79,5%), реже выявлялись *bla*<sub>CTX-M9</sub> (13,6%) и *bla*<sub>CTX-M8</sub> (6,9%). У штаммов *E. coli* O25 выявленные гены *bla*<sub>CTX-M</sub> принадлежали к одному кластеру *bla*<sub>CTX-M1</sub>.

К MDR фенотипу относились 45,6% (78 из 171) резистентных штаммов *E. coli* O6 и 100% штаммов *E. coli* O25 (27 штаммов). Фенотипом XDR характеризовался каждый пятый MDR штамм *E. coli* O6 и *E. coli* O25.

Штаммы O144:H45 были чувствительны ко всем тестируемым АМП.

Далее детальному изучению были подвергнуты штаммы *E. coli* O25 и O144. *E. coli* O25 – на принадлежность к клональной линии ST 131, так как все штаммы относились к серотипу O25:H4, филогенетической группе B2 и к MDR фенотипу. *E. coli* O144:H45 – как «нового» серовара чувствительного к АМП, часто выделяемого из проб испражнений здоровых людей (детей и взрослых) и не имеющих генов DEC и ExPEC.

**Выявление эпидемически значимого ST131.** Исследования, проведенные в ПЦР в мультиплексном формате, выявили у всех штаммов *E. coli* O25:H4 специфические гены (*pabBspe*, *trpA*), ассоциированные с клональным комплексом O25:H4B2ST131 [146]. В главе 2 представлена подробная характеристика штаммов этого клона. Все они были возбудителями ИСМП во многих стационарах Санкт-Петербурга. Таким образом, в результате исследования было установлено, что штаммы *E. coli* O25, выделенные из проб испражнений здоровых лиц и зарегистрированные как ЕТЕС – возбудители ОКИ, принадлежат к ExPEC – пандемичному успешному международному клону высокого риска O25:H4B2ST131.

Данные WGS штамма *E. coli* O144:H45 - «нового» серовара чувствительного к АМП, на протяжении 15 лет часто выделяемого из проб испражнений здоровых людей (детей и взрослых) и по результатам ПЦР анализа, не имеющего генов

вирулентности DEC и ExPEC, были проанализированы на биоинформационных платформах Центра геномной эпидемиологии (CGE) Датского технического университета (DTU):

- онлайн сервер SerotypeFinder – позволил подтвердить антигенную характеристику штамма: *E. coli* O144:H45;

- онлайн сервер ResFinder – 3.2 не выявил гены резистентности всех групп АМП (оксалидинонам, триметоприму, фосфомицину, хинолонам, макролидам, колистину, сульфаниламидам, рифампицину, тетрациклинам, аминогликозидам, фениколам, бета-лактамам, фузидиевой кислоте, нитромидазолу и гликопептидам);

- онлайн сервер оценки патогенного потенциала и анализа прогнозирования бактериальной патогенности PathogenFinder показал, что штамм *E. coli* O144:H45 не содержит гены вирулентности, коррелирующие с заболеваниями человека (т.е. штамм не патогенен для человека.

- онлайн сервера MLST-2.0 определил принадлежность штамма *E. coli* O144:H45 к сиквенс-типу ST10.

Несмотря на то, что онлайн сервер VirulenceFinder 1.5 не обнаружил гены, кодирующие факторы вирулентности патогенных для человека DEC и ExPEC, были выявлены генетические детерминанты штаммов АРЕС: с идентичностью референтным образцам 99,81% - 99,32% - гена (*ireA*), кодирующего белок наружной мембраны (рецептор сидерофора), и гена (*iss*), ответственного за устойчивость к бактерицидному действию сыворотки крови. Наличие этих генов является отличительным признаком штаммов *E. coli*, патогенных для птиц, от патогенных для человека ExPEC [223, 245, 369].

По литературным данным, в птицеводстве используют вакцины против системных заболеваний, содержащие ген *iss* против колибациллезса птиц [224], а ген *ireA* включен в «Белковую вакцину *E. coli* IreA», которую используют для колонизационной защиты мочевыводящих путей птиц [109].

По данным литературы в США, странах ЕС и Азии *E. coli* клонального комплекса ST10, характеризуются, с одной стороны, как низко вирулентные

штаммы, входящие в состав нормобиоты кишечника человека. С другой стороны, как штаммы, продуцирующие БЛРС, ассоциируемые с внутрибольничными и внебольничными внекишечными инфекциями человека. Такие штаммы часто выделяли от домашних птиц и свиней и контаминированной мясной продукции (мясо птиц и свинины) [143, 157, 302].

На протяжении последних пяти лет (2014-2018 гг.) в Санкт-Петербурге на долю *E. coli* O6 приходилось от 25% (2014 г.) до 50% (2018 г.) всех выделенных патогенных *E. coli*. Эпидемиологическая особенность *E. coli* O6 заключалась в широкой циркуляции среди здорового населения (детей и взрослых) без клинических симптомов ОКИ, обследованных с профилактической целью. Наши исследования показали, что штаммы *E. coli* O6:H1 и *E. coli* O25:H4 не имеют генов ЕТЕС и других патогрупп DEC, поэтому они не могут относиться к возбудителям ОКИ. У этих штаммов выявлены гены, ассоциированные с внекишечными заболеваниями: каждый штамм содержал кластер генов, кодирующих различные адгезины (*fimH*, *sfa*, *afa*, *pap*), токсины (*hly*, *cnf*) сидерофоры (*iutA*, *fyuA*, *chu*), характерные для UPEC, среди которых выявлены клинически значимые фенотипы резистентности (MDR и XDR). Установлено, что случаи выделения из испражнений здоровых лиц штаммов *E. coli* O25, зарегистрированных как «носительство ЕТЕС», принадлежали к пандемическому международному клону высокого риска *E. coli* O25:H4-B2-ST131, характеризующегося MDR и XDR. Полученные результаты показали, что важным условием эффективности культурального исследования проб испражнений является адекватный выбор дополнительных молекулярных методов детекции DEC. Этиологическая значимость разных клинических форм заболеваний, обусловленных *E. coli*, определяется наличием генов вирулентности возбудителя.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

*Escherichia coli* являются облигатными факультативно-анаэробными комменсалами толстого кишечника человека, животных и птиц [132, 134, 139]. В процессе эволюции выраженная биологическая и экологическая пластичность генома *E. coli* способствует формированию патогенного потенциала штаммов и появлению высоковирулентных клонов, способных вызывать широкий спектр заболеваний у человека в определенном биотопе/системе в результате различных комбинаций факторов вирулентности [111, 248, 338, 342].

В работе представлена характеристика биологических свойств 1704 штаммов *E. coli*, выделенных из проб биоматериала больных и здоровых лиц, обследованных по клиническим и эпидемическим показаниям.

Из 824 штаммов *E. coli* 18 серологических групп, идентифицированных культуральным методом, к истинным возбудителям острых кишечных инфекций, которые содержали гены вирулентности DEC пяти патогрупп, относились 160 (19,4%). Остальные 80,6% штаммов были типичными *E. coli* по культурально – морфологическим и ферментативным свойствам, принадлежали к трем серогруппам O6, O25 и O144, не имели генов вирулентности DEC.

Молекулярными методами установлено, что в Российской Федерации в 2014-2018 гг. диарейные заболевания у детей и взрослых были обусловлены штаммами DEC, которые принадлежали к разным филогенетическим группам, характеризовались широким разнообразием антигенных вариантов, наличием генов, кодирующих основные и дополнительные факторы вирулентности, имеющие клиническое и эпидемиологическое значение.

Шигатоксин-продуцирующие штаммы STEC, включая EHEC, относились к филогенетической группе B1; ETEC и EIEC – к группе A; EPEC были представлены штаммами двух филогрупп – A и B1; штаммы EAgEC принадлежали к четырем филогруппам с преобладанием группы B2.

EPEC относились к девяти известным серологическим группам и 11 серологическим вариантам. *E. coli* шести серогрупп/восьюми сероваров O114:H-,

O119:H6, O125:H6, O126:H2, O127:H6, O127:H40, O142:H6 и O142:H34 содержали гены адгезии (*eae* и *bfp*) и принадлежали к «типичным» t-EPEC – возбудителям диарейных заболеваний детей раннего возраста. Источником возбудителей этой группы является человек, путь передачи, как правило, контактно-бытовой, реализуется в условиях детских стационаров, лечебно-профилактических и дошкольных учреждениях [144, 190, 227, 251, 346, 371]. Штаммы трех сероваров – O26:H11, O55:H6 и O111:H2 по наличию гена *eae* и отсутствию гена *bfp* принадлежали к «атипичным» a-EPEC – возбудителям диарейных заболеваний детей и взрослых, фактором передачи которых являются пищевые продукты животного происхождения [139, 147, 172, 211, 370] .

Исследования последних десятилетий, посвященные изучению STEC, показали наличие в этой патогруппе высоковирулентных для человека штаммов ЕНЕС [76, 299], которые кроме генов *stx*, кодирующих продукцию шигаподобных токсинов, содержат ген *eae*, кодирующий адгезин – белок наружной мембраны (интимин). Штаммы STEC, выделенные на территории РФ, принадлежали к пяти серологическим вариантам: O26:H11, O55:H7, O111:H8, включая ЕНЕС O145:H28 и O157:H7. Штаммы различались по типу продуцируемых токсинов (Stx1, Stx2), но относились к одному субтипу «а», широко распространенному в популяции STEC, выделенных от крупного рогатого скота (КРС). Штаммы STEC O26:H11, O55:H7 и O111:H8 содержали ген *stx1a*, ЕНЕС O145:H28 – ген *stx2a*. Из восьми штаммов ЕНЕС O157:H7 три имели ген *stx1a*, три – *stx2a* и два штамма характеризовались наличием двух генов *stx1a* и *stx2a*.

ЕТЕС принадлежали к трем известным серологическим вариантам: O25:H-, O25:42, O128:H7 и различались по типу продуцируемых энтеротоксинов. Штаммы *E. coli* серогруппы O25 имели ген *elt*, кодирующий продукцию термолабильного энтеротоксина (LT), *E. coli* O128:H7 – ген *est*, кодирующий продукцию термостабильного энтеротоксина (ST).

ЕIEC относились к четырем известным серовариантам O29:H-, O124:H-, O152:H- и O164:H-, имели хромосомный ген *ipaH*, кодирующий основной фактор патогенности *Shigella* и ЕIEC – способность к инвазии, и были неоднородны по

набору плазмидных генов инвазивности (*ial*, *invE*). У штаммов *E. coli* O29:H- и O164:H- присутствовал ген *invE*, у O152:H- ген *ial*, у O124:H – *ial* и *invE*.

EAgEC – представляющие «новую» патогруппу DEC, вызывают ОКИ у детей и взрослых во всех странах, не включены в международную классификацию болезней (десятого пересмотра, МКБ-10). Исследования последних лет указывают на появление гибридных штаммов EAgEC с генетическими маркерами возбудителей инфекций внекишечной локализации: мочевыводящих путей, уросепсиса и менингита [103, 105, 129, 199, 281]. В РФ нормативно-методические документы по лабораторной диагностике и О – сыворотки для типирования штаммов этой патогруппы отсутствуют. Коллекция EAgEC была представлена штаммами, выделенными из испражнений пациентов с диарейным синдромом и мочи пациентов с ИМП. 75% копроизютов и 100%, выделенных из мочи, характеризовались «гетеропатогенным» потенциалом вирулентности – содержали гены EAgEC и UPEC: из них 88,3% и 64,3% штаммов имели ген *aggR* и принадлежали к типичным t-EAgEC. По сочетанию семи генов, кодирующих факторы вирулентности EAgEC (*aggR*, *aaf*, *aap*, *aatA*, *pet*, *ast*, *aai*), штаммы, выделенные из испражнений, характеризовались 15 индивидуальными генотипами, выделенные из мочи – шестью. Анализ геномов 24 копроизютов показал, что штаммы с идентичными нуклеотидными последовательностями генов, кодирующих синтез О- и Н-антигенов, принадлежали к 10 серогруппам и 13 сероварам: O3:H2, O11:H10, O16:H48, O51:H30, O55:H21, O73:H18, O73:H33, O86:H2, O86:H10, O92:H33, O140:H2, O159:H10. Однако ОК-сыворотками отечественного производства могли быть идентифицированы штаммы лишь двух серогрупп – O55 и O86. Два штамма с Н антигеном 42 имели уникальные нуклеотидные последовательности генов, кодирующих О-антиген, которые отличались от 188 известных в настоящее время, включенных в международную базу данных SerotypeFinder.

Выпускаемые в РФ агглютинирующие диагностические эшерихиозные О-сыворотки позволяют идентифицировать 98% известных О-серогрупп ЕРЕС, 63% - ЕІЕС, 37% - ЕТЕС, 24% - STEС и не более 10% - EAgEC. Отсутствие доступных

диагностических Н–сывороток не позволяет определить серологический вариант выделенных штаммов *E. coli*, тем самым снижая достоверность детекции возбудителя. В большинстве случаев антигенная характеристика не позволяет оценить принадлежность штаммов *E. coli* к конкретным патогруппам и их этиологическую значимость при диарейных заболеваниях. Результаты нашего исследования показали, что неоднородность по генам вирулентности штаммов DEC, принадлежащих к одной из серогрупп (O25, O55, O111 и др.) и даже одному серовару (O26:H11), диктует необходимость подтверждать молекулярными методами патогруппу штамма, так как вызываемые ими заболевания характеризуются различиями в патогенезе, клинической симптоматике, а также эпидемиологическими особенностями. От принадлежности возбудителя к определенному патогруппе (наличие клинически значимых генов вирулентности) зависят подходы к лечению, профилактике и проведению адресных противоэпидемических мероприятий.

Отечественная ПЦР тест-система для детекции диареогенных *E. coli* позволяет идентифицировать все патогруппы DEC (EPEC, ETEC, STEC, EIEC, EAgEC), включая «гибридные», без дифференциации на типичные и атипичные варианты EPEC и EAgEC и типы продуцируемых токсинов ETEC и STEC.

Полученные данные показывают, что важным условием эффективности культурального исследования испражнений является адекватный выбор дополнительных молекулярных методов детекции всех патогрупп DEC.

В последние годы широкое международное распространение получили STEC O26:H11 двух сиквенс-типов ST21 и ST29. В Японии, США, Австралии и многих европейских странах, в которых проводят мониторинг возбудителей STEC-инфекций, штаммы этого серовара часто выделяют от больных ОКИ, из пищевых продуктов и от КРС [192, 291]. Биоинформационный анализ данных полногеномного секвенирования с использованием стандартизованных методов и международных баз данных выявил в российских штаммах STEC O26:H11 детерминанты, кодирующие основной фактор вирулентности STEC – шигаподобный токсин Stx1 (ген *stx1a*), семь дополнительных генов, кодируемых



плазмидой pVF (*ehxA*, *katP*, *espP*, *cba*, *gad*, *cif*, *iss*), и принадлежность к сиквенс-типу ST21 – высоковирулентному успешному клону высокого риска эпидемического распространения [123]. В практических бактериологических лабораториях такие штаммы систематически относят к ЕРЕС.

Коллекция ExРЕС включала 301 штамм, выделенный из биоматериала (кровь, моча, раневое отделяемое, мокрота, перитонеальная жидкость) пациентов, проходивших стационарное или амбулаторное лечение. Штаммы принадлежали к различным филогенетическим группам, большинство (82,3%) – к группам В2 (50,8%) и D (31,5%), к которым, как правило, относят ExРЕС [107, 287]. К группам А и В1, с которыми в основном ассоциируют комменсальные *E. coli*, были отнесены 11,6% и 7,0% штаммов. Патогенетически значимые генетические детерминанты возбудителей внекишечных инфекций были выявлены у 96,0% штаммов. По сочетанию 17 генов, ассоциированных с адгезией (*fimH*, *pap*, *afa*, *sfa* и *focG*), синтезом сидерофоров (*fyuA* и *iutA*), капсул (*kpsMTII*, *kpsMTIII* и *kpsMTK1*), токсинов (*hlyA*, *cnf*, *cdt* и *cvaC*), инвазинов (*ibeA*), обеспечивающих резистентность к бактерицидному действию сыворотки крови (*traT*), наличию острова патогенности UРЕС (РАI) выявлены 206 индивидуальных генотипов вирулентности. Подавляющее большинство (98,3%) штаммов содержали от двух до десяти генов вирулентности. Маркеры неблагоприятного прогноза течения ИМП выявлены у 12% штаммов, из них 10,7% - имели гены *sfa* и *kpsK1*, ассоциированные с развитием сепсиса, и 1,3% - менингита по наличию гена *ibeA*, ответственного за инвазию эндотелия сосудов головного мозга.

Основную сложность при интерпретации результатов лабораторного исследования из-за возможной контаминации и отсутствия конкретных критериев детекции штаммов ExРЕС представляют изоляты, выделенные из мочи и перитонеальной жидкости. Согласно ряду исследовательских работ, к группе ExРЕС относят штаммы, содержащие два или более основных генов вирулентности (*pap*, *sfa*, *afa*, *kpsMTII*, *iutA*). Другие, так называемые дополнительные гены (*fimH*, *hlyA*, *cvaC*, *cnf*, *cdtB*, *kpsMTIII*, *ibeA*, *traT* и РАI), могут быть потенциально связаны с ExРЕС, так как способствуют адаптивной и

конкурентной колонизации [220, 318]. Все штаммы *E. coli*, выделенные при ИСМП из крови, мокроты, раневого отделяемого и мочи, а также 87,7% штаммов, выделенные из перитонеальной жидкости, и 93,0% из мочи амбулаторных пациентов, удовлетворяли критериям ExPEC – имели от трех до десяти генов, принадлежали к филогруппам B2 и D. 19,3% штаммов не имели основных и дополнительных генов вирулентности, принадлежали к филогруппам A и B1 и были расценены как контаминанты, из них 12,3% были выделены из перитонеальной жидкости и 7,0% – из мочи амбулаторных пациентов.

В настоящее время проблема резистентности микроорганизмов к АМП приобрела глобальный характер, во многих странах ее рассматривают как одну из угроз общенациональной безопасности [49, 53, 63, 253]. ВОЗ включила *E. coli* в список семи видов бактерий, вызывающих жизнеугрожающие заболевания, такие как сепсис, диарея, пневмония, ИМП и др., в качестве индикаторных для слежения за развитием резистентности к АМП, а также в список 12 патогенов, в котором *E. coli* с множественной устойчивостью, продуцирующие БЛРС и карбапенемазы, отнесены к группе микроорганизмов с критически высоким уровнем приоритетности по потребности в создании новых АМП [11, 16].

Для характеристики резистентности и механизмов устойчивости к  $\beta$ -лактамам антибиотикам изучены 1033 штамма *E. coli*, которые включали возбудителей внекишечных внутри- и внебольничных инфекций, острых кишечных инфекций, а также представителей нормобиоты кишечника. В изученной популяции *E. coli* чувствительными ко всем АМП были 27% штаммов, за исключением возбудителей внутрибольничных инфекций, среди которых такие штаммы отсутствовали. Высокие доли чувствительности отмечены к меропенему (99,8%), нитрофурантоину (95,3%), амикацину (93,9%), хлорамфениколу (83,1%); к остальным АМП они варьировали от 46,7% (ампициллин) до 78,5% (гентамицин). Штаммы с MDR – фенотипом значительно чаще встречались в группе возбудителей внутрибольничных инфекций (ИСМП) – 100%, по сравнению с внебольничными ГСИ – 65,5% и ОКИ – 43,8%: из них резистентными к цефалоспорином III – IV поколения были 100%, 43,0% и 27,9% соответственно.

Молекулярными методами установлено, что в каждой субпопуляции резистентность к цефалоспорином III – IV поколения была обусловлена общим глобальным механизмом – продукцией БЛРС преимущественно генетического семейства CTX-M, а также появлением штаммов (43,0%), содержащих несколько (до четырех) генов различных классов  $\beta$  – лактамаз. Подобная ситуация является отражением аллодемии – множественности генетических источников (генов резистентности, мобильных элементов), формирующих пул микроорганизмов, продуцирующих разные  $\beta$  – лактамазы [97, 115]. Среди ExPEC доминирующим вариантом CTX-M была эпидемически значимая цефалоспориноаза CTX-M-15, ассоциируемая с вирулентным клоном *E. coli* высокого риска пандемического распространения ST131. Именно данным вариантом возбудителя в течение последних двух десятилетий обусловлены внутрибольничные вспышки и внебольничные случаи ИМП во многих странах [106, 162, 186, 222, 284, 358]. У резистентных к карбапенемам штаммов были выявлены гены двух  $\beta$  - лактамаз: CTX-M-15 и NDM металло- $\beta$ -лактамаза. В популяции возбудителей ОКИ, продуцирующие БЛРС, штаммы значимо чаще относились к патогруппе EAgEC (69,2%) по сравнению со штаммами других патогрупп: EPEC (20,0%), STEC (7,7%) и EIEC (3,1%). Среди штаммов ETEC продуценты БЛРС не выделены.

Использование молекулярных методов позволило выявить в российской популяции *E. coli* патогенные штаммы, принадлежащие к успешным международным клоном высокого риска пандемического распространения: ST131, ST38, ST405 и ST21. MLST-типирование 136 штаммов *E. coli* – возбудителей ИСМП выявило 28 индивидуальных сиквенс-типов со значимым доминированием (72,1%) трех международных клонов высокого эпидемического риска: ST 131 (34,6%), ST38 (19,1%), ST 405 (18,4%). Полученные результаты подтверждают представление об «эпидемической» популяционной структуре резистентных *E. coli*, сформированной несколькими успешными клоном, на фоне выраженного разнообразия сиквенс-типов. Подобная ситуация возникла в результате селекции штаммов из большого числа неродственных клонов, обладающих высокой частотой рекомбинаций и способных адаптироваться к

меняющимся условиям существования. Такие «адаптивные» клоны со временем приобретают глобальное распространение среди клинически значимых вариантов возбудителей, отвечая на селективное давление АМП формированием MDR - и XDR - фенотипов [97, 115].

Штаммы *E. coli* ST 38, выделенные из мочи, характеризовались MDR-фенотипом и гетеропатогенным генотипом – содержали гены ExPEC (UPEC) и DEC (EAgEC). Наличие широкого спектра генов свидетельствует о формировании этой генетической линии из множества источников генов резистентности и вирулентности, а не о клональной экспансии из одного источника. По данным литературы *E. coli* ST 38 относят к высоковирулентным гибридным штаммам UPEC/EAgEC [142].

*E. coli* ST 405 вызывают жизнеугрожающее осложнение – уросепсис, что подтверждается находками штаммов этого ST в различных биоматериалах пациентов, включая кровь – до 80%.

*E. coli* ST131 в течение последних десятилетий получил глобальное распространение как возбудитель внебольничных ИМП и ИСМП. *E. coli* O25:H4-B2-ST131 является ведущим возбудителем патогруппы ExPEC во многих странах мира, включая Россию [162, 253, 259, 284, 296, 327, 358] и характеризуется высоким потенциалом вирулентности и резистентности к АМП. Целенаправленный поиск штаммов, принадлежащих к пандемическому международному клону высокого риска *E. coli* O25:H4-B2-ST131, среди возбудителей внекишечных внебольничных заболеваний, а также представителей нормобиоты кишечника выявил, что к этому клону относились 17,0% изолятов, выделенных из мочи, 9,2% - перитонеальной жидкости и 3,0% штаммов, входящих в состав нормобиоты кишечника.

В настоящее время актуальным научным направлением является изучение видовой структуры и патогенного потенциала симбиотических микроорганизмов, колонизирующих кишечник человека, для оценки возможных рисков возникновения заболеваний, вызываемых индигенными микроорганизмами [102, 205, 263, 347]. Четыреста девяносто типичных (лактозоположительных) штаммов

*E. coli*, выделенных из испражнений взрослых жителей Санкт-Петербурга без признаков острых и хронических заболеваний ЖКТ, не содержали гены DEC, что позволило отнести их к облигатным факультативно-анаэробным индигенным представителям нормобиоты кишечника. Штаммы значимо чаще принадлежали к филогенетическим группам А (62,7%) и В1 (3,2%), к которым по данным литературы принадлежат комменсальные *E. coli* [107, 287, 342]. К группам В2 и D, ассоциированным с ExPEC, относились 22,4% и 11,6% соответственно. Высоким потенциалом развития ИМП характеризовались 38,7% штаммов, в том числе возбудителей вторичного менингита и сепсиса (22,8%).

Штаммы *E. coli*, входящие в состав нормобиоты кишечника, значимо реже (14,4%) были резистентны к АМП по сравнению с возбудителями внекишечных внутрибольничных, внебольничных и острых кишечных инфекций. Резистентность к цефалоспорином III – IV поколения была обусловлена продукцией БЛРС преимущественно молекулярного класса А (СТХ-М). Каждый третий штамм содержал от двух до трех генов  $\beta$  – лактамаз. Полученные данные позволяют предположить, что в настоящее время, микробиота кишечника человека является эндогенным резервуаром патогенных ExPEC (потенциальных уропатогенов) резистентных к АМП [10, 27, 111, 150, 242]. Полученные данные также свидетельствуют о необходимости изучения микробиоты кишечника человека, которое существенно дополнит традиционные представления о биологических свойствах *E. coli* как облигатного представителя нормобиоты кишечника.

В заключительном разделе работы приведены «ошибки» интерпретации результатов лабораторных исследований, проведенных культуральным методом при обосновании этиологической значимости штаммов *E. coli* как возбудителей ОКИ. Штаммы трех серогрупп О6 (380 штаммов), О25 (27 штаммов) и О144 (259 штаммов), выделенные из испражнений детей и взрослых, были реидентифицированы молекулярным методом. Гены вирулентности DEC (EPEC, ETEC, EHEC, EIEC, EAgEC) не были выявлены ни у одного штамма. *E. coli* О6 и О25 относились к филогенетической группе В2, с которой ассоциируют ExPEC,

штаммы серогруппы O144 – к филогенетической группе А, к которой, как правило, принадлежат непатогенные (комменсальные) *E. coli*. Методом молекулярного серотипирования установлены серологические варианты штаммов *E. coli* – O6:H1, O6:H5, O6:H7, O25:H4 и O144:H45. По наличию 11 генов, кодирующих адгезию (*pap*, *fimH*, *sfa*, *afa*), продукцию токсинов (*hlyA*, *cnf*), сидерофоров (*fyuA*, *chu*, *iutA*), штаммы *E. coli* O6:H1, O6:H5, O6:H7 и O25:H4 относились к возбудителям внекишечных заболеваний, в частности, ИМП, что согласуется с данными литературы [161, 221, 293, 310], о том, что кишечник человека является естественным резервуаром штаммов ExPEC. Штаммы *E. coli* O144:H45 не имели ни один из тестируемых генов ExPEC. *E. coli* O25 относились к широко распространенному успешному международному клону высокого риска *E. coli* O25:H4-B2-ST131 [105, 146, 162, 222, 223].

Исторически сложившимся и традиционным для диагностики бактериальных инфекций является культуральный метод, основанный на выделении из биоматериала чистой культуры и «идентификации» - определения видовой принадлежности изолята по совокупности фенотипических признаков (морфологических, тинкториальных, биохимических). В зависимости от оснащённости лаборатории идентификацию проводят рутинными пробирочными/планшетными или аппаратными методами. Следует отметить, что даже самые современные способы видовой идентификации, такие как масс-спектрометрия, не меняют сути проводимых манипуляций. Перечисленные аналитические технологии неинформативны для решения основной задачи лабораторного исследования: выделенный штамм *E. coli* – вирулентный или авирулентный? Выявление *E. coli* с типичными культуральными свойствами из испражнений не является бесспорным доказательством их этиологической роли, так как поиск патогенных *E. coli* проводится среди облигатных *E. coli* популяционной плотности  $10^7$ - $10^8$  КОЕ/грамм фекалий. Следуя принципам доказательной медицины, необходимо установить достоверность определения клинической значимости выделенного микроорганизма и в рамках культурального метода определить чувствительность к АМП для обоснования

этиотропной терапии. При выделении из биоматериала *E. coli* мы сталкиваемся с серьезной проблемой в доказательстве этиологической значимости находки. Для одних микроорганизмов (*Shigella spp.*, *Salmonella enterica*) патогенность является видовым свойством, для других (*Vibrio cholerae*, *Corynebacterium diphtheriae*) – характеристикой конкретного штамма, и для оценки патогенных свойств необходимо определять генетические детерминанты вирулентности либо их фенотипическую экспрессию (фактор вирулентности). Для *E. coli* патогенность не является видовым признаком, но в процессе эволюции сформировалось множество факторов патогенности, сочетание которых позволило разделить вид на множество нетаксономических групп – (патоваров, патогрупп и др.). Реализация патогенного потенциала *E. coli* ограничена генетическими детерминантами вирулентности. Без детекции совокупности генов или факторов вирулентности, присущих конкретному штамму, установление его клинической и эпидемической значимости невозможно.

В течение многих лет в РФ практические лаборатории в рамках бактериологической диагностики ОКИ при выделении *E. coli* проводят серотипирование изолята, определяя его серогруппу, и на основании результатов этой процедуры делают заключение о роли выделенного штамма в развитии наблюдаемой у пациента патологии. В настоящее время известно, что к DEC принадлежат штаммы более 130 серогрупп. Для детекции серогруппы *E. coli* в распоряжении лабораторий имеется ограниченный перечень О- и ОК-агглютинирующих сывороток (44 сыворотки); при этом детекция серовара методом классического серотипирования невозможна из-за отсутствия отечественных Н-сывороток. В последние годы значимый прогресс в лабораторной диагностике связан с разработкой быстрого и надежного метода – «молекулярного серотипирования», основанного на детекции генов, кодирующих синтез О-, К- и Н- антигенов [113, 114, 187, 208]. Его использование в рамках культурального исследования является экономически более выгодным, чем классическое серотипирование, и с точки зрения доказательности такой подход не вызывает сомнений. В то же время идентичные по ферментативным свойствам

или О-антигенной характеристике *E. coli* могут различаться по набору генов вирулентности. Штаммы ряда серогрупп (O1, O6, O25, O144 и др.) с одинаковой частотой выделяют от здоровых и больных диарейными детей и взрослых. С развитием молекулярных методов и внедрением их в диагностический процесс установлено, что штаммы серогрупп O26, O55, O111 могут содержать гены вирулентности разных «патогрупп» - ЕРЕС или STEC. Поэтому использование культурального метода без подтверждения патогруппы молекулярными (детекция генов вирулентности) или экспериментальными методами (выявление специфической адгезии ЕРЕС и EAgЕС в культуре клеток Нер-2; определение продукции экзотоксинов STEC и EТЕС и способность к инвазии ЕІЕС на лабораторных животных) приводит к гипердиагностике DEC. Исследования, ограниченные только культуральным методом, с одной стороны, приводят к ошибкам при регистрации ОКІ эшерихиозной этиологии, нерациональному назначению антибактериальной терапии и проведению профилактических мероприятий. С другой стороны, из-за отсутствия доступных тест-систем, диагностических сывороток, селективных питательных сред не идентифицируют многие STEC, EAgЕС, что приводит к завышению показателей ОКІНЭ.

Проведенные исследования показали, что использование молекулярных методов в лабораторной диагностике диарейных заболеваний позволяет выявлять штаммы всех патогрупп диареегенных *E. coli*. Детекция комплекса генов в штаммах *E. coli*, выделенных при внекишечных заболеваниях, подтверждает не только этиологическую значимость изолятов, но и позволяет оценить патогенный потенциал развития тяжелых жизнеугрожающих осложнений (менингит, сепсис). Принадлежность к одной серологической группе патогенных и комменсальных *E. coli* требует подтверждения патогенных свойств штаммов.

Полученные результаты свидетельствуют о необходимости оптимизации алгоритма лабораторной диагностики заболеваний, обусловленных DEC. Этиологическую значимость выделенного штамма *E. coli*, достоверно можно оценить при применении комплекса культуральных и молекулярных методов. Полногеномное секвенирование штаммов, использование стандартизованных



методов анализа и международных баз данных позволяют получить подробную информацию о генетической характеристике изолята, его источниках и географическом распространении, а также проводить детекцию международных успешных клонов высокого риска эпидемического распространения, оценивать их эволюцию и географию циркуляции, выявлять конкретные факторы передачи. Молекулярные методы расширяют аналитические и диагностические возможности лабораторной диагностики.

## ВЫВОДЫ

1. Включенные в исследование возбудители острых кишечных инфекций – *E. coli* различных серологических вариантов принадлежали к пяти патогруппам (энтеропатогенные, шигатоксин-продуцирующие, энтеротоксигенные, энтероинвазивные, энтероаггративные) и обладали вариабельными наборами генов, кодирующих антигены и факторы вирулентности, определяющие клиническую и эпидемиологическую значимость штаммов.
2. У штаммов *E. coli* – возбудителей внекишечных заболеваний выявлены 206 индивидуальных генотипов вирулентности, ассоциированных с уропатогенными *E. coli*, из них 10,7% штаммов имели детерминанты септицемических *E. coli*, 1,3% – менингеальных *E. coli*; 14,9% штаммов – возбудителей инфекций мочевыводящих путей характеризовались гибридным энтероаггративным / уропатогенным (EAgEC/UPEC) генотипом.
3. Гены, кодирующие факторы вирулентности диареегенных и уропатогенных *E. coli*, содержат 79,7% штаммов патогруппы энтероаггративных *E. coli*.
4. Множественная устойчивость к антимикробным препаратам выявлена в субпопуляциях возбудителей инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи (100%), внекишечных (65,5%), диарейных (43,8%) заболеваний и нормобиоты кишечника (33,7%). Штаммы с экстремальной резистентностью встречались во всех субпопуляциях *E. coli*, значимо чаще среди возбудителей инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи (32,4%;  $p < 0,05$ ), по сравнению с возбудителями гнойно-септических (12,0%), диарейных (6,9%) инфекций и нормобиоты кишечника – (2,4%).
5. В общей популяции *E. coli* продуцентами бета-лактамаз расширенного спектра были 33,4% штаммов, включая возбудителей инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи (100%), гнойно – септических инфекций (43,0%), острых кишечных инфекций (27,9%), нормобиоты кишечника (14,4%). Устойчивость к цефалоспорином III – IV поколения обусловлена продукцией бета-лактамаз расширенного спектра генетического семейства CTX-M (77,0%) клональных групп CTX-M1 и CTX-M9.

6. Микробиота кишечника человека является скрытым резервуаром патогенных *E. coli* – возбудителей гнойно-септических заболеваний, инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи, с множественной резистентностью к антимикробным препаратам, в том числе, международного клона высокого эпидемического риска *E. coli* O25:H4-B2-ST131.
7. Выявление в популяции *E. coli* штаммов STEC O26:H11-B1-ST21 – возбудитель диарейных заболеваний и ExPEC O25:H4-B2-ST131- возбудитель внекишечных заболеваний, свидетельствует о циркуляции в Российской Федерации высоковирулентных резистентных к антимикробным препаратам международных клонов высокого риска пандемического распространения.
8. Оценка этиологической значимости штамма *E. coli* как возбудителя острой кишечной инфекции на основе антигенной характеристики в 80% случаев затрудняет интерпретацию результатов исследования и приводит к диагностическим ошибкам. Определение принадлежности к серологической группе без подтверждения наличия генов вирулентности не позволяет достоверно определить патогенный потенциал штамма.
9. Учитывая значимую роль *E. coli* в патологии человека, целесообразно пересмотреть существующие принципы и этапы лабораторного исследования. Идентификация штаммов *E. coli* наравне с определением фенотипических свойств должна включать детекцию генов вирулентности для подтверждения этиологической значимости выделенного штамма.

## ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Результаты работы обосновывают необходимость использования молекулярных методов, подтверждающих патогенность выделенного изолята *E. coli*, для обоснования его этиологической значимости.
2. Для повышения эффективности диагностики эшерихиозов необходимо переоснащение бактериологических лабораторий и внедрение высокотехнологичных исследований, обеспечивающих детекцию антигенного комплекса, генов/факторов вирулентности и резистентности.
3. Проводить детекцию генов вирулентности, резистентности к антибиотикам и других биологических свойств *E. coli*, выделяемых при проведении санитарно-микробиологических исследований пищевых продуктов, водных ресурсов и других объектов внешней среды, для целенаправленных мер профилактики по ограничению «завоза» международных клонов высокого эпидемического риска и их циркуляции на территории Российской Федерации.
4. Для выявления шигатоксин-продуцирующих штаммов *E. coli* на территории Российской Федерации рекомендуется внедрение молекулярно-эпидемиологического мониторинга для своевременного выявления подобных изолятов. Необходимым являются постановка скрининг-теста (полимеразная цепная реакция, иммунохроматографический тест), подтверждающего продукцию токсинов или генов, кодирующих их. Для заболеваний, вызванных штаммами серогрупп «не – O157», своевременная информация о генотипе вирулентности позволит снизить риски развития тяжелых осложнений и летальности.
5. Для уменьшения диагностических ошибок при проведении профилактических бактериологических обследований декретированной категории лиц необходимо у выделенных *E. coli* серологических групп O6, O25 и O144 проводить детекцию генов вирулентности для оценки этиологической значимости носительства возбудителей ОКИ.
6. Учитывая глобальное распространение детерминант резистентности к клинически значимым антибиотикам, необходимо на всех уровнях (территориальном, региональном, федеральном) добавить в мониторинг развития

резистентности к антибиотикам диареегенные и комменсальные *E. coli*, как индикаторы резистентности всей популяции.

7. Для проведения своевременных разграничительных мероприятий по ограничению распространения и «заноса» в стационары международных эпидемических клонов *E. coli* – возбудителей внекишечных заболеваний, необходимо включить в программы инфекционного контроля скрининг на носительство таких штаммов пациентами при поступлении в стационар и медицинским персоналом при профилактических осмотрах.

8. Организовать целенаправленный поиск штаммов *E. Coli*, ассоциированных с возбудителями менингитов новорожденных, колонизирующих кишечник беременных и рожениц или с заболеваниями мочевыводящих путей в центрах репродукции, женских консультациях и других учреждениях, оказывающих специализированную медицинскую помощь данной группе населения.

9. Профилактика осложнений заболеваний, вызванных *E. coli*, должна включать меры, направленные на коррекцию нормобиоты кишечника, – снижение доли облигатных *E. coli*, способных к реализации патогенного потенциала и нарушению барьерных функций эпителия кишечника. В клинικο-диагностических лабораториях на преморбидном этапе рекомендуется использовать молекулярные методы детекции определенных генов вирулентности *E. coli* для оценки риска развития жизнеугрожающих осложнений.

10. Патогенные *E. coli* должны рассматриваться не как условно-патогенные возбудители заболеваний человека, а как пул микроорганизмов с высоким гетеропатогенным потенциалом, разнообразием комбинаций генов, кодирующих ключевые факторы патогенности.

Предложенные практические рекомендации могут быть внедрены в лаборатории центров гигиены и эпидемиологии, практического здравоохранения, иного другого подчинения, что позволит осуществить более полное информационное обеспечение, качественную микробиологическую и эпидемиологическую диагностику заболеваний.

## ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ

1. Для достижения целей Программы фундаментальных научных исследований в Российской Федерации в рамках оптимизации национальной системы эпидемиологического надзора за инфекциями целесообразно разработать отечественные ускоренные экономически упрощенные методы и диагностические наборы реагентов для детекции международных высоковирулентных успешных клонов высоко риска пандемического распространения *E. coli* ST 131, ST 38, ST 405 – возбудителей инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи, и ST 21, ST 29 – возбудителей диарейных заболеваний, обусловленных пищевыми продуктами.

2. Для реализации Концепции научного обеспечения деятельности органов и организаций Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека в рамках приоритетных направлений развития фундаментальных и прикладных исследований с целью обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия и прогнозирования рисков в области биологической безопасности:

- необходимо продолжить работу по расширению коллекционных фондов патогенных микроорганизмов штаммами *E. coli*, способными к широкому эпидемическому распространению;
- создать национальную компьютерную базу данных *E. coli* – возбудителей инфекционных заболеваний человека, включающую информационное сопровождение штаммов результатами развернутых микробиологических, молекулярно-генетических и эпидемиологических исследований;
- продолжить наблюдение за циркуляцией и изменениями вирулентного потенциала клинически и эпидемиологически значимых штаммов *E. coli* – возбудителей инфекционных заболеваний различной локализации с целью своевременного их выявления, совершенствования этиологической диагностики, а также профилактики и лечения, вызываемых ими заболеваний.
- оптимизировать лабораторную диагностику заболеваний, обусловленных патогенными *E. coli* – возбудителями инфекций кишечной и внекишечной

локализации, на основе комплекса культурального и молекулярных методов выявления генетического разнообразия и оценки взаимосвязи с клиническими особенностями инфекционного процесса.

3. Для достижения целей Национальной стратегии предупреждения распространения резистентности к антибиотикам на территории Российской Федерации необходимо дальнейшее изучение механизмов резистентности и мониторинг клинически значимой устойчивости в популяции патогенных *E. coli*, а также оптимизация эпидемиологического надзора и инфекционного контроля на основе молекулярно-генетических методов, позволяющих проследить качественные и количественные изменения структуры популяции и тенденции развития резистентности.

4. Для реализации национальных целей и стратегических задач развития Российской Федерации (Указ Президента от 07.05.2018 № 204) в рамках перспектив развития профилактической медицины продолжить изучение:

- патогенного потенциала *E. coli*, колонизирующих кишечник человека, для разработки комплекса профилактических мер по снижению эндогенных факторов, обуславливающих высокий риск развития заболеваний и их осложнений;
- роли микробиоты кишечника как резервуара вирулентных и резистентных к антибиотикам штаммов, включая клоны высокого риска пандемического распространения;
- патогенетических механизмов и факторов, предрасполагающих к формированию постинфекционных нарушений микробиоценоза кишечника.

5. В рамках приоритетных научных направлений отраслевой научно-исследовательской Программы Роспотребнадзора продолжить исследование механизмов, лежащих в основе комплекса эпидемических, микробиологических, клинических и экологических процессов, с целью разработки универсального метода лабораторной диагностики заболеваний эшерихиозной этиологии, целенаправленных профилактических, противоэпидемических мероприятий и персонализированных терапевтических стратегий.

## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

|        |                                                               |
|--------|---------------------------------------------------------------|
| АА     | – АггREGационная адгезия                                      |
| АМП    | – Антимикробный препарат                                      |
| БЛРС   | – Бета-лактамазы расширенного спектра                         |
| ВИЧ    | – Вирус иммунодефицита человека                               |
| ВОЗ    | – Всемирная организация здравоохранения                       |
| ГСИ    | – Гнойно-септические инфекции                                 |
| ГК     | – Гемоколит                                                   |
| ГУС    | – Гемолитико-уремический синдром                              |
| ГЭБ    | – Гематоэнцефалический барьер                                 |
| ДИ     | – Доверительный интервал                                      |
| ДНК    | – Дезоксирибонуклеиновая кислота                              |
| ЕС     | – Европейский Союз                                            |
| ЕЭЗ    | – Европейская экономическая зона                              |
| ЖКТ    | – Желудочно-кишечный тракт                                    |
| ИМП    | – Инфекции мочевыводящих путей                                |
| ИСМП   | – Инфекции, связанные с оказанием медицинской помощи          |
| ИОХВ   | – Инфекции в области хирургического вмешательства             |
| ИФА    | – Иммуноферментный анализ                                     |
| ИХ     | – Иммунохроматографический метод                              |
| ИХТ    | – Иммунохроматографический тест                               |
| ИХА    | – Иммунохроматографический анализ                             |
| КДЛ    | – Клинико-диагностическая лаборатория                         |
| КОЕ    | – Колонии образующие единицы                                  |
| КРС    | – Крупный рогатый скот                                        |
| ЛПС    | – Липополисахарид                                             |
| МПК    | – Минимальная подавляющая концентрация                        |
| НИИ    | – Научно-исследовательский институт                           |
| НЭК    | – Некротический энтероколит                                   |
| ОКИ    | – Острые кишечные инфекции                                    |
| ОКИНЭ  | – Острые кишечные инфекции неясной этиологии                  |
| ООН    | – Организация Объединенных Наций                              |
| ОРИТ   | – Отделение реанимации и интенсивной терапии                  |
| ПЦР    | – Полимеразная цепная реакция                                 |
| ПЦР-РВ | – Полимеразная цепная реакция в реальном времени              |
| ПЦР-ЭФ | – Полимеразная цепная реакция с электрофоретической детекцией |
| РА     | – Реакция агглютинации                                        |
| РФ     | – Российская Федерация                                        |



|           |                                                                                                        |
|-----------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| ФБУЗ      | – Федеральное бюджетное учреждение здравоохранения                                                     |
| ФБУН      | – Федеральное бюджетное учреждение науки                                                               |
| цАМФ      | – Циклический аденозин монофосфат                                                                      |
| цГМФ      | – Циклический гуанозин монофосфат                                                                      |
| ЮНИСЕФ    | – Международный чрезвычайный детский фонд ООН                                                          |
| a – EAgEC | – Атипичные энтероаггративные <i>E. coli</i>                                                           |
| a-EPEC    | – Атипичные энтеропатогенные <i>E. coli</i>                                                            |
| AIEC      | – Адгезивно-инвазивные <i>E. coli</i>                                                                  |
| AmpC      | – Цефалоспорины молекулярного класса C                                                                 |
| APEC      | – Патогенные для птиц <i>E. coli</i>                                                                   |
| ATCC      | – American Type Culture Collection; Американская коллекция типовых культур                             |
| CTX-M     | – Цефалоспорины молекулярного класса A                                                                 |
| DAEC      | – Диффузно-адгезивные <i>E. coli</i>                                                                   |
| DEC       | – Диареегенные <i>E. coli</i>                                                                          |
| EAgEC     | – Энтероаггративные <i>E. coli</i>                                                                     |
| EHEC      | – Энтерогеморрагические <i>E. coli</i>                                                                 |
| EIEC      | – Энтероинвазивные <i>E. coli</i>                                                                      |
| EPEC      | – Энтеропатогенные <i>E. coli</i>                                                                      |
| ETEC      | – Энтеротоксигенные <i>E. coli</i>                                                                     |
| ExPEC     | – Внекишечные патогенные <i>E. coli</i>                                                                |
| FAO       | – Food and Agriculture Organization; Продовольственная и сельскохозяйственная организация              |
| GFN       | – Global foodborne infections network; Глобальная сеть по надзору за инфекциями пищевого происхождения |
| IAEC      | – Интраабдоминальные <i>E. coli</i>                                                                    |
| IMP       | – Металло-бета-лактамазы класса B                                                                      |
| LT        | – Термолабильный энтеротоксин                                                                          |
| MBL       | – Металло-бета-лактамазы                                                                               |
| MDR       | – Multidrug resistance; Множественная устойчивость к антимикробным препаратам                          |
| MLST      | – Multi-locus Sequence Typing; Мультилокусное секвенирование-типирование                               |
| NDM       | – Металло-бета-лактамазы класса B                                                                      |
| NGS       | – Next Generation Sequencing; Секвенирование нового поколения                                          |
| NM        | – Non motility; Неподвижный                                                                            |
| NMEC      | – Менингеальные <i>E. coli</i>                                                                         |
| NTEC      | – Некротоксигенные <i>E. coli</i>                                                                      |
| PAI       | – Остров патогенности                                                                                  |
| RAPD-ПЦР  | – Полимеразно-цепная реакция с универсальными праймерами                                               |

|         |                                                                    |
|---------|--------------------------------------------------------------------|
| REP-ПЦР | – Полимеразно-цепная реакция с универсальными праймерами           |
| SEPEC   | – Септицемические <i>E. coli</i>                                   |
| SHV     | – Цефалоспориназы молекулярного класса А                           |
| ST      | – Термостабильный энтеротоксин                                     |
| ST      | – Сиквенс тип                                                      |
| Stx     | – Шигаподобный токсин                                              |
| STEC    | – Шигатоксин-продуцирующие <i>E. coli</i>                          |
| t-EAgEC | – Типичные энтероаггративные <i>E. coli</i>                        |
| t-EPEC  | – Типичные энтеропатогенные <i>E. coli</i>                         |
| TEM     | – Цефалоспориназы молекулярного класса А                           |
| UPEC    | – Уропатогенные <i>E. coli</i>                                     |
| VIM     | – Металло-бета-лактамазы класса В                                  |
| WGS     | – Whole genome sequencing; Полногеномное секвенирование            |
| XDR     | – Extra drug resistance; Экстремальная устойчивость к антибиотикам |

**СПИСОК ЦИТИРУЕМОЙ ЛИТЕРАТУРЫ**

1. Айвазян, С.Р. Современная лабораторная диагностика острых инфекционных диарейных заболеваний / С.Р. Айвазян, И.Э. Грановский, В.В. Филиппова, Н.И. Воронцова, В.А. Малов, И.П. Белецкий // Российский педиатрический журнал. – 2012. – № 5. – С. 51-56.
2. Акимкин, В.Г. Актуальные направления научных исследований в области инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи, на современном этапе / В.Г. Акимкин, А.В. Тутельян // Здоровье населения и среда обитания. – 2018. – № 4 (301). – С. 46-50.
3. Алексеева, А.Е. Возможности и перспективы применения методов массивного параллельного секвенирования в диагностике и эпидемиологическом за инфекционными заболеваниями / А.Е. Алексеева, Н.Ф. Бруснигина // Медиаль. – 2014. – № 2 (12). – С. 6 -28.
4. Алиева, А.К. Микробиологическая безопасность и контроль качества продуктов птицеводства, реализуемых в торговых сетях Санкт-Петербурга и Ленинградской области / А.К. Алиева, М.И. Дмитриченко, В.В. Пеленко // Вестник ВГУИТ. – 2017. – Т. 79, № 1. – С. 290-296.
5. Антипов, М.О. Эпидемиологическая характеристика наиболее актуальных болезней органов пищеварения инфекционной природы в регионах России / М.О. Антипов, А.Я. Миндлина // Профилактическая медицина. – 2020. – № 23 (3). – С. 76-80.
6. Багирова, Н.С. Бактериemia истинная или ложная: значение критериев оценки клинической значимости положительной гемокультуры / Н.С. Багирова // Клиническая лабораторная диагностика. 2015. – Т. 60 (8). – С. 55-61.
7. Баймуратова, М.А. Эффективность микробиологического мониторинга за кишечными эшерихиозами у детей г. Алматы / М.А. Баймуратова, Г.С. Базарова, Р.А. Тьесова-Бердалина, Б.Т. Жумабекова, З.С. Абдусаламова, Э.Е. Анешова // Вестник АГИУВ. – 2018. – Т. 4. – С. 17 – 23.
8. Бондарева, А.В. Роль патогенных эшерихий в этиологической структуре острых кишечных инфекций у детей на современном этапе / А.В. Бондарева, А.В.

- Горелов, А.Т. Подколзин, Т.А. Николаева // Инфекционные болезни. – 2012. – Т. 10. – Приложение №1. – С. 61.
9. Будник, Т.В. Антибиотикорезистентность в контексте инфекции мочевыводящих путей / Т.В. Будник // Семейная медицина. – 2015. – № 4 (60). – С. 77-84.
10. Бухарин, О.В. Факторы уропатогенности бактерий: роль в патогенезе и значение в диагностике пиелонефрита / О.В. Бухарин, В.А. Гриценко, А.А. Вялкова // Нефрология и диализ. – 2001. – Т.3, № 4. – С. 469-475.
11. ВОЗ (Всемирная организация здравоохранения), 2011. Европейский стратегический план действий по проблеме устойчивости к антибиотикам / ВОЗ. [Электронный ресурс]. – Режим доступа: [https://www.euro.who.int/\\_data/assets/pdf\\_file/0011/147737/wd14R\\_AntibioticResistance\\_111383\\_lko.pdf?ua=1](https://www.euro.who.int/_data/assets/pdf_file/0011/147737/wd14R_AntibioticResistance_111383_lko.pdf?ua=1)
12. ВОЗ (Всемирная организация здравоохранения), 2011. Глобальное бремя инфекций, связанных с медико-санитарной помощью / ВОЗ. [Электронный ресурс]. – Режим доступа: [https://www.who.int/gpsc/country\\_work/burden\\_hcai/ru/](https://www.who.int/gpsc/country_work/burden_hcai/ru/)
13. ВОЗ (Всемирная Организация Здравоохранения), 2016. Система глобального мониторинга резистентности к антимикробным средствам (GLASS). [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/249579/97892244549407rus.pdf;jsessionid=96ED7E4A68F16B3A28E4AA1F01835B6F?sequence=1>
14. ВОЗ (Всемирная Организация Здравоохранения), 2017. Диарея. Основные факты. Информационный бюллетень 2017 г. [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets>
15. ВОЗ (Всемирная Организация Здравоохранения), 2017. Бремя болезней пищевого происхождения в европейском регионе ВОЗ. [электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://www.euro.who.int/ru/health-topics/disease-prevention/food-safety/publications/2017/the-burden-of-foodborne-diseases-in-the-who-european-region-2017>
16. ВОЗ (Всемирная Организация Здравоохранения), 2017. Список бактерий, для борьбы с которыми срочно требуется создание новых антибиотиков.

[Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://www.who.int/ru/news-room/detail/27-02-2017-who-publishes-list-of-bacteria-for-which-new-antibiotics-are-urgently-needed>

17. ВОЗ (Всемирная организация здравоохранения), 2017. Эпиднадзор за устойчивостью к противомикробным препаратам в Центральной Азии и Восточной Европе. Ежегодный доклад 2017. [Электронный ресурс]. – Режим доступа: [https://www.euro.who.int/\\_data/assets/pdf\\_file/0012/379947/who-caesar-ar-2017-rus.pdf?ua=1](https://www.euro.who.int/_data/assets/pdf_file/0012/379947/who-caesar-ar-2017-rus.pdf?ua=1)

18. ВОЗ (Всемирная организация здравоохранения), 2018. Эпиднадзор за устойчивостью к противомикробным препаратам в Центральной Азии и Восточной Европе. Ежегодный доклад 2018. [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/324800>

19. ВОЗ. Информационный бюллетень. Август 2019. Социальные аспекты здоровья населения. 2019; 65 (4). [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://cyberleninka.ru/article/n/voz-informatsionnyy-byulleten-avgust-2019-bezopasnost-produktov-pitaniya/viewer>

20. Габидуллин, Ю.З. Особенности некоторых биологических свойств монокультур бактерий родов *Enterobacter spp.*, *Citrobacter spp.*, *Serratia spp.*, *Proteus spp.* и их совместно сокультивируемых вариаций / Ю.З. Габидуллин, Р.С. Суфияров, З.Г. Габидуллин, Р.З. Суфиярова, М.Г. Зайнуллина // Вестник ЮурГУ. – 2013. – Т. 13, №1. – С. 96-101.

21. Гончар, Н.В. Антибиотико- и фагорезистентность клинических штаммов кишечной палочки у госпитализированных детей Санкт-Петербурга, больных эшерихиозами / Н.В. Гончар, И.В. Партина, О.И. Ныркова, А.С. Драп // Антибиотики и химиотерапия. – 2014. – Т. 59, № 9-10. – С. 38-43.

22. Гончар, Н.В. Эшерихиозы у детей: проблемы диагностики и лечения / Н.В. Гончар, К.Д. Ермоленко, О.И. Климова, Э.А. Мартенс, Ю.В. Лобзин, С.Г. Марданлы // Медицина экстремальных ситуаций. – 2020. – Т. 22, №2. – С. 148-155.

23. Горелов, А.В. Клинико-эпидемиологическая характеристика

- энтероаггративного эшерихиоза у детей / А.В. Горелов, А.В. Бондарева, А.Т. Подколзин // Инфекционные болезни. – 2013. – Т.11, № 3. – С. 22-26.
24. Горелов, А.В. Эволюция эшерихиозов у детей за 25 лет / А.В. Горелов, А.В. Бондарева // Эпидемиология и инфекционные болезни. – 2013. – № 5. – С. 46-50.
25. Горелов, А.В. Стартовая терапия эшерихиозов у детей / А.В. Горелов, А.В. Бондарева // Лечение и профилактика. – 2016. – № 4(20). – С. 69-73.
26. Городничев, Р.Б. Характеристика клинических изолятов *Escherichia coli*, выделенных от пациентов с болезнью Крона / Р.Б. Городничев, Д.В. Ракитина, А.И. Манолов, Ю.П. Байкова, П.Л. Щербаков, Г.Б. Смирнов, Е.Н. Ильина // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2017. - №6. – С. 42-49.
27. Гриценко, В.А. Эндогенные бактериальные инфекции как фундаментальная проблема медицины и оптимизация подходов к их терапии и профилактике / В.А. Гриценко, Д.Л. Аминин // Бюллетень Оренбургского научного центра УрОРАН (электронный журнал). – 2012. – №3. [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://elmag.uran.ru:9673/magazine/Numbers/2013-3/Articles/Gricenko-ADL-2013-3.pdf>
28. Дасаева, Л.А. Трудности в диагностике хронического пиелонефрита / Л. А. Дасаева // Альманах клинической медицины. – 2013. – № 29. – С. 75 – 78.
29. Дружинин, В.Г. Роль микробиоты в поддержании гомеостаза и индукции мутагенеза в соматических клетках человека / В.Г. Дружинин, В.Ю. Буслаев, Е.Д. Баранова, Л.В. Нечаева // Фундаментальная и клиническая медицина. – 2018. – Т.3, № 4. – С. 83-92.
30. Есаулкова, А.Ю. Молекулярно-генетический анализ штаммов диареегенных *E. coli*, выделенных от пациентов лечебных учреждений и декретированного контингента на территории Свердловской области. / А.Ю. Есаулкова, А.Л. Дурасова, Е.А. Егорова // Молекулярная диагностика. – 2017. – №1. – С. 279-280.
31. Жабченко, И.А. Уропатогенные штаммы *Escherichia coli*: особенности функционирования, факторы вирулентности, значение в клинической практике / И.А. Жабченко// Таврический медико-биологический вестник. – 2013. – Т.16, №

2. – С. 201- 206.

32. Захарова, И.Н. От бактериурии до микробиома мочевых путей / И.Н. Захарова, И.М. Османов, Е.Б. Мачнева, Э.Б. Мумладзе, А.Н. Касьянова, М.Р. Айсанова // Медицинский совет. – 2018. - № 17. – С. 168- 176.

33. Здвижкова, И.А. Скрининг генетических детерминант патогенного потенциала энтеробактерий / И.А. Здвижкова, С.В. Андрющенко // Вестник Оренбургского Государственного Университета. – 2017. – № 9 (209). – С. 57- 61.

34. Иванов, Д.В. Распространение и механизмы резистентности микроорганизмов, продуцирующих бета-лактамазы. Фенотипирование потенциальных продуцентов *AmpC* – бета лактамаз семейства *Enterobacteriaceae* и молекулярные механизмы устойчивости к бета-лактамным антибиотикам штаммов *Enterobacter cloacae*, выделенных при внутрибольничных инфекциях / Д.В. Иванов, А.М. Егоров // Биомедицинская химия. – 2009. – Т.55, № 1. – С. 50-60.

35. Иванова, Е. И. Выявление генов патогенности, кодирующих способность к токсинообразованию, у штаммов *Escherichia coli*, выделенных из кишечного биотопа детей // Е.И. Иванова, С.М. Попкова, Ю.П. Джигоев, Е.Б. Ракова // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. – 2013. - № 2(90). – С. 111-114.

36. Иванова, Е.И. Определение частоты встречаемости генов, кодирующих способность к формированию связывания пилей у аутоштаммов *Escherichia coli* / Е.И. Иванова, С.М. Попкова, Ю.П. Джигоев, Е.Б. Ракова, В.В. Долгих, М.В. Савелькаева, У.М. Немченко, Е.В. Бухарова, Л.В. Сердюк // Клиническая лабораторная диагностика. – 2015. – № 1. – С. 52-55.

37. Казанцев, А.В. Факторы вирулентности и филогенетическая характеристика уропатогенных штаммов *Escherichia coli*, выделенных на территории г. Саратова / А.В. Казанцев, Н.А. Осина, Т.О. Глинская, О.Н. Кошелева, Ю.В. Максимов, З.Л. Девдариани, А.Н. Микеров // Проблемы особо опасных инфекций. – 2019. – № 4. – С. 56-60.

38. Камалов, А.А. Факторы риска развития инфекционно-воспалительного процесса нижних мочевых путей / А.А. Камалов, Л.А. Ходырева, А.А. Дударева,

- А.Н. Низов // Вестник дерматологии и венерологии. – 2015. – № 2. – С. 63-76.
39. Кардымон, О.Л. Молекулярно-генетические методы для исследования микробиома кишечника / О.Л. Кардымон, А.В. Кудрявцева // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии и колопроктологии. – 2016. – № 26 (4). – С. 4-13.
40. Карцев, Н.Н. Микробиологическая и молекулярно-генетическая характеристика энтеротоксигенных и шига-токсин продуцирующих *Escherichia coli*, выделенных в Российской Федерации в 2011-2016 гг: автореф. дис. канд. мед. наук: 03.02.03 / Карцев Николай Николаевич. – Оболенск, 2017. - 24 с.
41. Карцев, Н.Н. Характеристика диареегенных эшерихий, выделенных от детей в возрасте до 5 лет в г. Ярославль / Н.Н. Карцев, Э.А. Светоч, М.Г. Ершова, Г.Н. Абросимова, О.И. Тазина, А.С. Пинчук, Н.К. Фурсова, А.П. Шепелин, И.А. Дятлов // Клиническая лабораторная диагностика. – 2018. - № 63 (4). – С. 249- 253.
42. Карцев, Н.Н. Использование веб-ресурса «Center for Genomic Epidemiology» для изучения генома STEC штамма *E. coli* серотипа O101:H33 / Н.Н. Карцев, Ю.П. Скрыбин, А.А. Кисличкина, А.Г. Богун, М.Е. Канащенко, Н.К. Фурсова, Э.А. Светоч // Бактериология. – 2019. – Т. 4, № 1. – С.44-49.
43. Каюков, И.Г. Некоторые вопросы этиопатогенеза, диагностики и тактики ведения пациентов при инфекциях мочевых путей / И.Г. Каюков // Нефрология. – 2011. – Т.15, № 1. – С. 71-80.
44. Клинические рекомендации «Инфекции мочевыводящих путей у детей, взрослых, беременных: цистит, пиелонефрит, бессимптомная бактериурия» Приняты на IV конгрессе врачей первичного звена здравоохранения Юга России, IX Конференции врачей общей практики (семейных врачей) Юга России, 7 ноября 2014г., г. Ростов-на-Дону. [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://www.doctorprompter.ru/uro1.pdf>
45. Клинические рекомендации по диагностике и лечению тяжелого сепсиса и септического шока в лечебно-профилактических организациях Санкт-Петербурга / Санкт-Петербургское общество специалистов по сепсису// Санкт-Петербург. – 2016. – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://rpc03.ru/wp-content/uploads/2013/04/sepsis.pdf>



46. Клинические рекомендации «Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам» (версии 2014, 2015, 2018 г.) [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://www.antibiotic.ru/minzdrav/files/docs/clrec-dsma2018.pdf>
47. Ковалев, О.Б. Характеристика острых кишечных инфекций у детей, госпитализированных в стационар г. Москвы / О.Б. Ковалев, А.А. Новокшенов, А.Л. Россина, С.Б. Чуелов, О.В. Молочкова, А.А. Корсунский, О.А. Кащенко, Е.В. Галева, Н.И. Крылатова, Е.Ю. Пылаева, В.Е. Караулова, С.А. Тесова, Г.Ю. Журавлев // Детские инфекции. – 2017. – Т. 16, № 3. – С. 59–63.
48. Козлов, Р.С. Стратегия использования антимикробных препаратов как попытка ренессанса антибиотиков / Р.С. Козлов, А.В. Голуб // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. – 2011. – Т.13, № 4. – С. 322 – 334.
49. Козлов, Р.С. Антибиотикорезистентность грамотрицательных возбудителей осложненных интраабдоминальных инфекций в России / Р.С. Козлов, А.В. Голуб, А.В. Дехнич, М.В. Сухорукова // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. – 2015. – Т.17, № 3. – С. 227 – 234.
50. Козлов, С.Н. Современная антимикробная химиотерапия: руководство для врачей / С.Н. Козлов, Р.С. Козлов. – 3-е изд., перераб. и доп. – Москва: ООО «Медицинское информационное агентство», 2017. – 400 с.
51. Кузнецова, М.В. Опыт использования Rep- и RAPD-полимеразной цепной реакции для эпидемиологической характеристики нозокомиальных изолятов *Pseudomonas aeruginosa* / М.В. Кузнецова, А.В. Максимова, Т.И. Карпунина // Клиническая лабораторная диагностика. – 2015. – №3. – С. 44- 50.
52. Кузнецова, М.В. Филогенетическое разнообразие и биологические свойства уropatогенных штаммов *Escherichia coli* / М.В. Кузнецова, Ю.С. Гизатуллина // Бюллетень Оренбургского научного центра УрО РАН. – 2019. - №3. [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://cyberleninka.ru/article/n/filogeneticheskoe-raznoobrazie-i-biologicheskie-svoystva-uropatogennyh-shtamov-escherichia-coli/viewer>

53. Лагун, Л.В. Бета-лактамазы расширенного спектра и их значение в формировании устойчивости возбудителей инфекций мочевыводящих путей к антибактериальным препаратам /Л.В. Лагун // Проблемы здоровья и экологии. – 2012. – Т. 3, № 33. – С. 82 – 88.
54. Леонтьева, Н.И. Клинико-лабораторные особенности современного течения острых кишечных инфекций у взрослых / Н.И. Леонтьева, Н.М. Грачева, И.Т. Щербаков, А.И. Соловьева, Е.И. Лиханская, О.Г. Жиленкова, В.В. Яний // В книге: Инфекционные болезни в современном мире: эпидемиология, диагностика, лечение и профилактика. Сборник трудов XII Ежегодного Всероссийского интернет-конгресса по инфекционным болезням с международным участием. Под ред. В.И. Покровского. Москва. – 2020. – С. 127-128.
55. Либенко, В.Н. Клинико–эпидемиологические особенности эшерихиозов у детей на современном этапе/ В.Н. Либенко, А.К. Катарбаев, К.К. Мустафина, М.В. Головенко // Вестник Казахского Национального Медицинского университета. – 2016. – № 1. – С. 148-152.
56. Лобзин, Ю.В. Практические рекомендации по ведению пациентов с инфекционной диареей / Ю.В. Лобзин, С.Б. Якушин, С.М. Захаренко // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. – 2001. – Т.3, № 2. – С. 163-182.
57. Межгосударственный стандарт «Полимеразная цепная реакция в режиме реального времени для определения патогенных микроорганизмов. Горизонтальный метод определения бактерий *Escherichia coli*, продуцирующих Шига-токсин, в том числе серогрупп O157, O111, O26, O103 и O145. ГОСТISO/TS 13136-2016. – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://docs.cntd.ru/document/1200141102>
58. Мельников, В.Л. Гнойно-септические осложнения в урологическом отделении стационара (обзор литературы) / В.Л. Мельников, Н.Н. Митрофанова, А.О. Суменкова, Н.А. Терина // Медицинские науки. Хирургия. – 2019. - № 3 (51). – С. 39-53.
59. Методическое пособие «Основы полимеразной цепной реакции» (ПЦР).

Москва, 2012 – 80 с. [Электронный ресурс]. – Режим доступа: [https://www.dna-technology.ru/sites/default/files/pcr\\_a5\\_083-4.pdf](https://www.dna-technology.ru/sites/default/files/pcr_a5_083-4.pdf)

60. Методические рекомендации Российской некоммерческой общественной организации «Ассоциация анестезиологов-реаниматологов», Межрегиональной общественной организации «Альянс клинических химиотерапевтов и микробиологов», Межрегиональной ассоциации по клинической микробиологии и антимикробной химиотерапии (МАКМАХ), общественной организации «Российский Сепсис Форум». Диагностика и антимикробная терапия инфекций, вызванных полирезистентными микроорганизмами / В.Б. Белобородов, В.Г. Гусаров, А.В. Дехнич, М.Н. Замятин, Н.А. Зубарева, С.К. Зырянов, Д.А. Камышова, Н.Н. Климко, Р.С. Козлов, В.В. Кулабухов, Ю.С. Полушин, В.А. Руднов, С.В. Сидоренко, И.В. Шлык, М.В. Эдельштейн, С.В. Яковлев // Вестник анестезиологии и реаниматологии. – 2020. – Т. 17, № 1. – С. 52-83.

61. Методические рекомендации. Антибактериальная терапия нозокомиальных инфекций, вызванных грамотрицательными бактериями, устойчивыми к карбапенемам, у пациентов хирургического профиля в условиях многопрофильного стационара МЧС России, под ред. профессора С.С. Алексанина // – СПб.: ВЦЭРМ им. А.М. Никифорова МЧС России, 2019. – 25 с.

62. Методические указания МУК 4.2.1890-04 Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам: утверждены Главным государственным санитарным врачом РФ 04.03.2004. – М.: Федеральный центр госсанэпиднадзора Минздрава России, 2004. – 91 с.

63. Миронов, А.Ю. Молекулярные механизмы резистентности к  $\beta$ -лактамам патогенов внутрибольничных инфекций / А.Ю. Миронов, И.В. Крапивина, Д.Е. Мудрак, Д.В. Иванов// Клиническая лабораторная диагностика. – 2012. – № 1. – С. 39 – 44.

64. Молекулярная диагностика инфекционных болезней / Под редакцией академика РАН, д.м.н., проф. В.И. Покровского, д.б.н., проф. М.Г. Твороговой, к.м.н. Г.А. Шипулина – М.: РИПОЛ классик, 2018. – 654 с.

65. Методические рекомендации для врачей. Диагностика и лечение острых

кишечных инфекций у детей / Л.Н. Мазаикова, С.Г. Горбунов // М., РМАПО – 2012. – 47 с.

66. Мурзабаева, Р.Т. Генетические маркеры патогенности клинических штаммов условно-патогенных энтеробактерий и особенности ассоциируемых с ними острых кишечных инфекций у взрослых / Р.Т. Мурзабаева, А.Р. Мавзютов, Д.Н. Дубровская, Д.А. Валишин // Инфекционные болезни. – 2016. – № 4. – С. 73 – 79.

67. Национальная Концепция профилактики инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи (утв. Главным государственным санитарным врачом РФ 6 ноября 2011 г.) [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://www.garant.ru/products/ipo/prime/doc/70000121/>

68. Найговзина, Н.Б. Оптимизация системы мер борьбы и профилактики инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи в Российской Федерации / Н.Б. Найговзина, А.Ю. Попова, Е.Е. Бирюкова, Е.Б. Ежлова, Е.П. Иголина, В.И. Покровский, В.Г. Акимкин, А.В. Тутельян, Н.В. Шестопапов, С.А. Краевой, Н.А. Костенко, Н.И. Брико, Е.Б. Брусина, Л.П. Зуева, И.В. Фельдблюм, В.В. Шкарин, Р.С. Козлов, В.Л. Стасенко, А.А. Голубкова, Г.Т. Сухих, Т.В. Припутневич, Р.Г. Шмаков, В.В. Зубков, А.С. Шкода, В.И. Шумилов, С.Д. Митрохин, О.Н. Ершова, Е.П. Селькова, Т.А. Гренкова, И.В. Иванов, О.Р. Швабский // ОРГЗДРАВ. Вестник ВШОУЗ. – 2018. – № 1 (11). – С. 17-26.

69. Новокшенов, А.А. Клинические рекомендации по диагностике и лечению ОКИ у детей в зависимости от типа диареи / А.А. Новокшенов, Л.Н. Мазанкова, В.Ф. Учайкин // Лечение и профилактика. – 2013. – № 4 (8). – С. 62 – 73.

70. О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2019 году: Государственный доклад. – М.: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 2020. – 299 с.

71. Онищенко, Г.Г. Биотерроризм: национальная и глобальная угроза / Г.Г. Онищенко, Л.С. Сандахчиев, С.В. Нетесов, Р.А. Мартынюк // Вестник Российской Академии наук. – 2003. – 73(3). – С. 195-204.

72. Оришак, Е.А. Выявление факторов вирулентности диареегенных *Escherichia coli*, выделенных от детей при исследовании на дисбиоз / Е.А. Оришак, К.Г. Косякова, Л.Ю. Нилова, Ю.А. Немытько, Э.Г. Оганесян, О.А. Каменева, Г.С. Мельникова // Профилактическая медицина – 2017. Сборник научных трудов Всероссийской научно-практической конференции с международным участием. Издательство: Северо-Западный государственный медицинский университет имени И.И. Мечникова. – 2017. – С. 213-218.
73. Палагин, И.С. Антибиотикорезистентность возбудителей внебольничных инфекций мочевых путей в России: результаты многоцентрового исследования «ДАРМИС – 2018» / И.С. Палагин, М.В. Сухорукова, А.В. Дехнич, М.В. Эйдельштейн, Т.С. Перепанова, Р.С. Козлов // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. – 2019. – Т.21, № 2. – С.134-146.
74. Печеник, А.С. Эволюция эпидемиологического процесса острых кишечных инфекций, пути совершенствования эпидемиологического надзора / А.С. Печеник, Ю.С. Чухров, Е.Б. Брусина, О.М. Дроздова // Профилактическая и клиническая медицина. – 2012. – № 3 (44). – С. 76-81.
75. Подколзин, А.Т. Изучение этиологии острых кишечных инфекций у детей, госпитализированных в инфекционные отделения стационаров Москвы / А.Т. Подколзин, А.А. Мухина, Г.А. Шипулин, В.Н. Кузьмина, С.И. Браславская, В.В. Малев, А.В. Горелов, Н.В. Белова, А.Г. Боковой, Н.Б. Танина, А.А. Новокшенов, Н.В. Соколова, Л.Н. Мазанкова, Н.О. Ильина, С.В. Шишкина, Г.Ю. Яковлева // Инфекционные болезни. – 2004. – Т.2, № 4. – С. 85-91.
76. Подколзин, А.Т. Оценка эффективности схем диагностики энтерогеморрагического эшерихиоза. Этиологическая верификация гемолитико-уремического синдрома в Российской Федерации / А.Т. Подколзин, Т.А. Коновалова, О.А. Веселова // Терапевтический архив. – 2014. – №11. – С. 66-69.
77. Приказ МЗ РФ от 10 мая 2017 года №203н «Об утверждении критериев оценки качества медицинской помощи». – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://www.garant.ru/products/ipo/prime/doc/71575880/>
78. Программа СКАТ (Стратегия Контроля Антимикробной Терапии) при

оказании стационарной медицинской помощи) Российские клинические рекомендации, Москва 2018. – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://nasci.ru/?id=2880>

79. Распоряжение Правительства РФ от 30.03.2019 N 604-р «Об утверждении Плана мероприятий на 2019 – 2024 годы по реализации Стратегии предупреждения распространения антимикробной резистентности в Российской Федерации на период до 2030 года, утв. Распоряжением Правительства РФ от 25.09.2017 N 2045-р» [Электронный ресурс]. – Режим доступа: [http://www.consultant.ru/document/cons\\_doc\\_LAW\\_321959/](http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_321959/)

80. Рафальский, В.В. Антибиотикорезистентность возбудителей неосложненных инфекций мочевых путей в Российской Федерации / В.В. Рафальский // Вестник урологии. – 2018. – Т. 6, № 3. – С. 50-56.

81. Руженцова, Т.А. Особенности применения антибактериальной терапии у детей при острых кишечных инфекциях / Т.А. Руженцова, А.А. Плоскирева, Л.Н. Милютина, А.В. Горелов // Медицинский совет. – 2016. – № 1. – С. 98 – 101.

82. Руководство EUCAST по выявлению механизмов резистентности и резистентности, имеющей особое клиническое и/или эпидемиологическое значение / редакция 1.0., декабрь 2013 // [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://www.antibiotic.ru/iacmac/ru/docs/eucast/eucast-guideline-on-detection-of-resistance-mechanisms-2.0-rus.pdf>

83. Рябкова, Е.Л. Резистентность нозокомиальных штаммов *Escherichia coli* в стационарах России / Е.Л. Рябкова, Н.В. Иванчик, М.В. Сухорукова, А.Г. Щебников, Г.К. Решедько // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. – 2009. – Т.11, № 2. – С. 161-169.

84. Сергевин В.И. Острые кишечные инфекции. Этиологическая структура, проблемы лабораторной диагностики, экологическая классификация / В. И. Сергевин // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. – 2013. – № 6. – С. 37 - 40.

85. Соколова, Е.Д. Полимеразная цепная реакция в диагностике острых кишечных инфекций в детском инфекционном стационаре: возможности и проблемы / Е.Д. Соколова, А.М. Галтаева, О.Ю. Замурий, О.В. Дидиченко, Ю.В.

Моколова, В.А. Муратова, О.Ю. Лигорова, И.Н. Журавлева, М.А. Макарова, Л.А. Кафтырева // Инфекция и иммунитет. – 2016. – Т.6, № 3. – С. 225-231.

86. Сухорукова, М.В. Антибиотикорезистентность нозокомиальных штаммов *Enterobacteriaceae* в стационарах России: результаты многоцентрового эпидемиологического исследования МАРАФОН 2011-2012 / М.В. Сухорукова, М.В. Эйдельштейн, Е.Ю. Скленова, Н.В. Иванчик, А.В. Тимохова, А.В. Дехнич, Р.С. Козлов // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. – 2014. – Т. 16, № 4. – С. 254 – 265.

87. Сухорукова, М.В. Антибиотикорезистентность нозокомиальных штаммов *Enterobacteriaceae* в стационарах России: результаты многоцентрового эпидемиологического исследования «МАРАФОН» 2013-2014 / М.В. Сухорукова, М.В. Эйдельштейн, Е.Ю. Скленова, Н.В. Иванчик, А.В. Микотина, А.В. Дехнич, Р.С. Козлов // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. – 2017. – Т. 19, № 1. – С. 49 – 56.

88. Сухорукова, М.В. Антибиотикорезистентность нозокомиальных штаммов *Enterobacteriales* в стационарах России: результаты многоцентрового эпидемиологического исследования «МАРАФОН» 2015-2016 / М.В. Сухорукова, М.В. Эйдельштейн, Н.В. Иванчик, Е.Ю. Скленова, Э.Р. Шайдуллина, А.В., И.С. Азизов, Е.А. Шек, А.Ю. Кузьменков, А.В. Дехнич, Р.С. Козлов, Н.В. Семенова, С.А. Слепакова, Н.В. Шепотайлова, В.В. Стребкова, Н.А. Рыбина, Н.З. Яранцева, Е.Ю. Перевалова, С.М. Розанова, С.Г. Наговицина, М.Г. Молдовану, З.З. Насыбуллова, М.В. Архипенко, Р.М. Шахмурадян, И.А. Нижегородцева, Е.В. Варибрус, И.А. Александрова, А.В. Лазарева, О.А. Крыжановская, Н.Н. Маркелова, Ю.Л. Чернявская, Е.В. Лебедева, Г.Ш. Кириллова, Г.Г. Беккер, Л.Д. Попова, Е.В. Елохина, Ю.Е. Смолькова, Д.Ю. Зиновьев, Л.Н. Итяева, Г. Ю. Блинова, Н.А. Зубарева, В.П. Витязева, М.Г. Плаксина, О.Ю. Куцевалова, Н.И. Панова, Т.Н. Суборова, О.В. Полухина, Т.М. Ворошилова, Е.М. Чурикова, Е.Н. Москвитина, О.И. Кречикова, Т.А. Петрова, Н.М. Мартыанова, К.О. Хохлова, Л.В. Гудкова, С.А. Быконя, Р.М. Хохлявина, Л.В. Шпилькина, Е.Г. Бурасова, В.А. Хребтовская, И.В. Молчанова, О.В. Звонарева, П.А. Корнилова, В.Г. Крянга, У.С.

Портнягина, С.Х. Шамаева // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. – 2019. – Т. 21, № 2. – С. 147 – 159.

89. Учваткин, Г.В. Уросепсис – актуальная проблема современной урологии / Г.В. Учваткин, Е.А. Гайворонский // Материалы 3-й научно-практической конференции урологов Северо-Западного федерального округа РФ. – 2017. – Т. 7. – С. 116-117.

90. Федеральные клинические рекомендации. Молекулярно-генетический мониторинг в системе эпидемиологического надзора за инфекциями, связанными с оказанием медицинской помощи. – М., 2014. – 45 с. [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://nasci.ru/?id=3371>

91. Федеральные клинические рекомендации. Принципы организации мониторинга устойчивости ведущих возбудителей инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи, к антимикробным препаратам в лечебно-профилактических медицинских организациях здравоохранения. – М., 2014. – 37 с. [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://nasci.ru/?id=3374>

92. Федосенко, С.В. Анализ генетических детерминант антибиотикоустойчивости кишечной микробиоты больных хронической обструктивной болезнью легких / С.В. Федосенко, Л.М. Огородова, И.А. Деев, А.В. Тяхт, А.С. Попенко, М.А. Карнаушкина, Е.С. Кострюкова, Е.С. Куликов, Н.А. Кириллова, И.В. Салтыкова, В.М. Говорун, Д.Г. Алексеев // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. – 2015. – Т.17, № 2. – С. 157-166.

93. Халиуллина, С.В. Острые инфекционные диареи у детей. Принципы диагностики / С.В. Халиуллина, В.А. Анохин, З.Т. Мухамердиева, Е.С. Пашанина // Практическая медицина. – 2016. – 8 (100). – С. 42-47.

94. Халиуллина, С.В. Этиологическая структура острых кишечных инфекций у пациентов, госпитализированных в инфекционный стационар / С.В. Халиуллина, В.А. Анохин, З.Т. Мухамердиева, Г.М. Курбанова // Практическая медицина. – 2019. – Т. 17, № 8. – С. 109 – 113.

95. Хрульнова, С.А. Молекулярная характеристика изолятов *Enterobacterales* с продукцией бета-лактамаз расширенного спектра, выделенных из гемокультуры



больных опухолями системы крови / С.А. Хрульнова, А.Г. Коробова, А.В. Федорова, И.Н. Фролова, Г.А. Клясова // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. – 2018. – Т. 20, № 4. – С. 375 – 380.

96. Чефранова, Ж. Ю. Микробиологический мониторинг и эпидемиологический надзор за внутрибольничными инфекциями в многопрофильном стационаре Белгородской области / Ж.Ю. Чефранова, Е.Е. Казакова, А.А. Башкирев, С.В. Хомяков, Е.А. Шмыкова, Е.А. Марущенко // Эпидемиология и инфекционные болезни. – 2016. – №5. – С. 40-44.

97. Шек, Е.А. Генетическое разнообразие штаммов *Acinetobacter baumannii*, продуцирующих карбапенемазы, в Беларуси: роль «международных клонов высокого риска» в распространении устойчивости к карбапенемам / Е.А. Шек, Д.В. Тапальский, Е.Ю. Склеенова, М.В. Сухорукова, И.А. Карпов, М.В. Эйдельштейн // Иммунопатология, аллергология, инфектология. – 2018. – №2. – С. 59-64.

98. Шилов, Г.Ю. Анализ заболеваемости острыми кишечными инфекциями в Российской Федерации, США и странах Евросоюза / Г.Ю. Шилов, Е.А. Смирнова // Пищевая промышленность. – 2013. – № 10. – С. 50-54.

99. Эйдельштейн М.В. Выявление бета-лактамаз расширенного спектра у грамотрицательных бактерий с помощью фенотипических методов / М. В. Эйдельштейн // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. – 2001. – Т. 3, №2. – С. 183-189.

100. Эйдельштейн, М.В. Динамика распространенности и чувствительности БЛРС-продуцирующих штаммов энтеробактерий к различным антимикробным препаратам в ОРИТ России / М.В. Эйдельштейн, Л.С. Страчунский, исследовательская группа РОСНЕТ // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. – 2005. – Т. 7, № 4. – С. 323-336.

101. Эмирова, Х.М. Гемолитико-уремический синдром, ассоциированный с шига-токсин-продуцирующей *Escherichia coli*. / Х.М. Эмирова, Е.М. Толстова, М.Ю. Каган, О.М. Орлова, Т.Ю. Абасеева, Т.Е. Панкратенко, И.Ю. Шпикалова // Нефрология. – 2016. – Т. 20, № 2. – С. 18-32.

102. Юдин, С.М. Анализ микробиоты человека. Российский и зарубежный опыт / С.М. Юдин, А.М. Егорова, В.В. Макаров // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2018. – № 11. – С. 175-180.
103. Abe, C. M. Uropathogenic *Escherichia coli* (UPEC) strains may carry virulence properties of diarrhoeagenic *E. coli* / C.M. Abe, F.A. Salvador, I. N. Falsetti, M. A. M. Vieira, J. Blanco, J. E. Blanco, M. Blanco, A. M. O. Machado, W. P. Elias, R. T. Hernandez, T. A. T. Gomes // FEMS Immunol Med Microbiol. – 2008. – Vol. 52. – P. 397-406.
104. Adeolu, M. Genome-based phylogeny and taxonomy of the *Enterobacterales*: proposal *Enterobacterales* ord. nov. divided into the families *Enterobacteriaceae*, *Erwiniaceae* fam. nov., *Pectobacteriaceae* fam. nov., *Yersiniaceae* fam. nov., *Hafniaceae* fam. nov., *Morganellaceae* fam. nov. and *Budviciaceae* fam. nov. / M. Adeolu, S. Alnajar, R.S. Gupta// Int J System Evolution Microbiol. – 2016. – Vol. 66. – P. 5575-5599.
105. Adwan, G. Molecular characterization of some *E. coli* strains theoretically responsible for both intestinal and extraintestinal infections / G. Adwan, K. Adwan, H. Bourince // Int J Med Res Health Sci. – 2016. – Vol. 5(6). – P. 158-163.
106. Alghoribi, M.F. Antibiotic-resistant ST38, ST131 and ST405 strains are the leading uropathogenic *Escherichia coli* clones in Riyadh, Saudi Arabia / M.F. Alghoribi, T.M. Gidreel, G. Farnham, S.M. Al Johani, H. H. Balkhy, M. Upton // J Antimicrob Chemother. – 2015. – Vol. 70. – P. 2757-2762.
107. Ali, I. Phylogeny, sequence-typing and virulence profile of uropathogenic *Escherichia coli* (UPEC) strains from Pakistan / I. Ali, Z. Rafaque, I. Ahmed, F. Tariq, S.E. Graham, E. Salzman, B. Foxman, J.I. Dasti // BMC Infect Dis. – 2019. – Vol. 19 (1):620.
108. Alikhani, M.Y. Detection of typical and atypical enteropathogenic *Escherichia coli* (EPEC) in Iranian children with and without diarrhoea / M. Y. Alikhani, A. Mirsalehian, M. M. Aslani // J Med. Microbiol. – 2006. – Vol. 55. – P. 1159–1163.

109. Alteri, C.J. Mucosal immunization with iron receptor antigens protects against urinary tract infection / C.J. Alteri, E.C. Hagan, K.E. Sivick, S.N. Smith, H.L. Mobley // PLoS Pathog. – 2009. – Vol. 5(9). – Article:e1000586.
110. Bailey, J.K. Distribution of human commensal *Escherichia coli* phylogenetic groups / J.K. Bailey, J.L. Pinyon, S. Anantham, R. M. Hall // J Clin Microbiol. – 2010. – Vol. 48(9). – P. 3455-3456.
111. Baldy-Chudzik, K. Well-known and new variants of pathogenic *Escherichia coli* as a consequence of the plastic genome / K. Baldy-Chudzik, E. Bok, J. Mazurek // Postepy Hig Med Dosw. – 2015. – Vol. 69. – P. 345-361.
112. Balier, C. Molecular profiling of shiga toxin-producing *Escherichia coli* and enteropathogenic *E. coli* strains isolated from French coastal environments / C. Balier, A. Rince, S. Delannoy, P. Fach, M. Gourmelon // Appl. Environ. Microbiol. – 2016. – Vol. 82. – P. 3913–3927.
113. Ballmer, K. Fast DNA serotyping of *Escherichia coli* by use of an oligonucleotide microarray/ K. Ballmer, M. Korczak, P. Kuhnert, P. Slickers, R. Ehrlich // J Clin. Microbiol. – 2007. – Vol. 45(2). – P. 370-379.
114. Banjo, M. *Escherichia coli* H-genotyping PCR: a complete and practical platform for molecular H typing / M. Banjo, J. A. Iguchi, K. Seto, T. Kikuchi, T. Harada, F. Scheutz, S. Iyoda // J Clin. Microbiol. – 2018. – Vol. 56(6). – e00190-18.
115. Baquero, F. Allodemics / F. Baquero, T.M. Coque, R. Canton // Lancet Infect. Dis. – 2002. – Vol. 2. – P. 591-592.
116. Bellini, E. M. Antibody response against plasmid-encoded toxin (Pet) and the protein involved in intestinal colonization (Pic) in children with diarrhea produced by enteroaggregative *Escherichia coli* / E. M. Bellini, W.P. Elias, T.A. Gomes // FEMS Immunol Med Microbiol. – 2005. – Vol. 43. – P. 259–264.
117. Bettelheim, K.A. Serotypes of non-O157 Shiga toxinogenic *Escherichia coli* (STEC) / K.A. Bettelheim, P.N. Goldwater // Advances in Microbiology. – 2014. – Vol. 4. – P. 377-389.
118. Beutin, L. Identification of sequence diversity in the *Escherichia coli* *fliC* genes encoding flagellar types H8 and H40 and its use in typing of shiga toxin-producing *E.*

*coli* O8, O22, O111, O174, and O179 strains / L. Beutin, E. Strauch // J Clin. Microbiol. – 2007. – Vol.45 (2). – P. 333-339.

119. Beutin, L. Genetic analysis and detection of *fliCH1* and *fliCH12* genes coding for serologically closely related flagellar antigens in human and animal pathogenic *Escherichia coli* / L. Beutin, S. Delannoy, P. Fach // Front Microbiol. – 2016. – Vol. 7:135.

120. Bielaszewska, M. Molecular profiling and phenotype analysis of *Escherichia coli* O26:H11 and O26:NM: secular and geographic consistency of enterohemorrhagic and enteropathogenic isolates / M. Bielaszewska, W. Zhang, P. I. Tarr, A-K. Sonntag, H. Karch // J Clin. Microbiol. – 2005. – Vol. 43 (8). – P. 4225–4228.

121. Bielaszewska, M. Shiga toxin gene loss and transfer in vitro and in vivo during enterohemorrhagic *Escherichia coli* O26 infection in humans / M. Bielaszewska, R. Prager, R. Kock, A. Mellmann, W. Zhang, H. Tschape, P. I. Tarr, H. Karch // Appl. Environ. Microbiol. – 2007. – Vol. 73 (10). – P. 3144–3150.

122. Bielaszewska, M. Characterization of the *E. coli* strain associated with an outbreak of haemolytic uraemic syndrome in Germany, 2011: a microbiological study / M. Bielaszewska, A. Mellmann, W. Zhang // Lancet Infect Dis. – 2011. – Vol. 11. – P. 671–676.

123. Bielaszewska, M. Enterohemorrhagic *Escherichia coli* O26:H11/H-: a new virulent clone emerges in Europe / M. Bielaszewska, A. Mellmann, S. Bletz, W. Zhang, R. Kock, A. Kossow, R. Prager, A. Fruth, D. Orth-Holler, M. Marejkova, S. Morabito, A. Caprioli, D. Pierard, G. Smith, C. Jenkins, K. Curova, H. Karch // Clin Infect Dis. – 2013. – Vol. 56(10). – P. 1373-1381.

124. Blum, G. Virulence determinants of *Escherichia coli* O6 extraintestinal isolates analysed by Southern hybridizations and DNA long range mapping techniques / G. Blum, M. Ott, A. Cross, J. Hacker // Microbial Pathogenesis. – 1991. – Vol. 10. – P. 127-136.

125. Blum, G. Properties of *Escherichia coli* strains of serotype O6 / G. Blum, J. Hacker, R. Marre // Infection. – 1995. – Vol. 23. – P. 234-236.

126. Boisen, N. New adhesin of enteroaggregative *Escherichia coli* related to the

Afa/Dr/AAF family / N. Boisen, C. Struve, F. Scheutz, K.A. Krogfelt, J.P. Nataro // Infect. Immun. – 2008. – Vol. 76. – P. 3281–3292.

127. Boisen, N. Genomic characterization of enteroaggregative *Escherichia coli* from children in Mali / N. Boisen, F. Scheutz, D.A. Rasko, J.C. Redman, S. Persson, J. Simon, K.L. Kotloff, M.M. Levine, S. Sow, B. Tamboura, A. Toure, D. Malle, S. Panchalingam, K.A. Krogfelt, J.P. Nataro // J. Infect. Dis. – 2012. – Vol. 205. – P. 431–444.

128. Bok, E. Comparison of commensal *Escherichia coli* isolates from adults and young children in Lubuskie Province, Poland: virulence potential, phylogeny and antimicrobial resistance / E. Bok, J. Mazurek, A. Мус, M. Stosik, M. Wojciech, K. Baldy-Chudzik // Int. J. Environ. Res. Public Health. – 2018. – Vol. 15 (4). – Режим доступа: <https://doi.org/10.3390/ijerph15040617>.

129. Boll, E.J. Role of enteroaggregative *Escherichia coli* virulence factors in uropathogenesis / E.J. Boll, C. Struve, N. Boisen, B. Olesen, S.G. Stahlhut, K.A. Krogfelt // Infect Immun. – 2013. – Vol. 81 (4) – P. 1164–1171.

130. Bonardi, S. Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O157, O26 and O111 in cattle faeces and hides in Italy // S. Bonardi, I. Alpigiani, R. Tozzoli, A. Vismarra, V. Zecca, C. Greppi, C. Bacci, I. Bruini, F. Brindani // Vet Rec Open. – 2015. – Vol. 2. – Режим доступа: doi:10.1136/vetreco-2014-000061.

131. Bonkat, G. European Association of Urology. Guidelines on urological infection 2018 / G. Bonkat, R. Picard, R. Bartoletti, T. Cai, F. Bruyere, S.E. Geerlings, B. Koves, F. Wagenlehner // [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://uroweb.org/wp-content/uploads/EAU-Guidelines-on-Urological-Infections-2018-large-text.pdf>

132. Brett, K. N. Bovine non-O157 shiga toxin 2-containing *Escherichia coli* isolates commonly possess *stx*<sub>2-EDL933</sub> and/or *stx*<sub>2vhh</sub> subtypes / K. N Brett, M. A. Hornitzky, K. A. Bettelheim, M. J. Walker, S. P. Djordjevic // J Clin. Microbiol. – 2003. – Vol. 41 (6). – P. 2716–2722.

133. Camprubí-Font, C. Study of a classification algorithm for AIEC identification in geographically distinct *E. coli* strains / C. Camprubí-Font, P. Bustamante, R.M. Vidal // Sci Rep. – 2020. – Vol. 10. – Режим доступа: doi:10.1038/s41598-020-64894-5.

134. Carlos, C. *Escherichia coli* phylogenetic group determination and its application in the identification of the major animal source of fecal contamination / C. Carlos, M. M. Pires, N. C. Stoppe, E. M. Hachich, M. I. Z. Sato, T. A.T. Gomes, L. A. Amaral, L. M. M. Ottoboni // BMC Microbiology. – 2010. – Vol. 10. – Режим доступа: doi:10.1186/1471-2180-10-161.
135. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Guidance for Public Health laboratories on the isolation and characterization of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) from clinical specimens / Association of Public Health Laboratories // – 2012. 62 p. – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: [https://www.aphl.org/AboutAPHL/publications/Documents/FS\\_2012April\\_Guidance-for-PHLs-Isolation-and-Characterization-of-Shiga-Toxin-Producing-Escherichia-coli-STEC-from-Clinical.pdf](https://www.aphl.org/AboutAPHL/publications/Documents/FS_2012April_Guidance-for-PHLs-Isolation-and-Characterization-of-Shiga-Toxin-Producing-Escherichia-coli-STEC-from-Clinical.pdf)
136. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Morbidity and Mortality Weekly Report. Preliminary Incidence and Trends of Infections with Pathogens Transmitted Commonly Through Food — Foodborne Diseases Active Surveillance Network, 10 U.S. Sites, 2016–2019. – 2020. – Vol. 69, № 17.
137. Cerna, J.F. Multiplex PCR for detection of three plasmid-borne genes of enteroaggregative *Escherichia coli* strains / J.F. Cerna, J.P. Nataro, T. Estrada-Garcia // J Clin Microbiol. – 2003. – Vol. 41. – P. 2138–2140.
138. Chart, H. Heterogeneity in expression of lipopolysaccharides by strains of *Escherichia coli* O157 / H. Chart, B. Said, N. Stokes, B. Rowe // J Infect. – 1993. – Vol. 27(3). – P.237-241.
139. Chase-Topping, M.E. Pathogenic potential to humans of bovin *Escherichia coli* O26, Scotland / M.E. Chase-Topping, T. Rosser, L.J. Allison, E. Courcier, J. Evans, I. J. McKendrick, M.C. Pearce, I. Handel, A. Caprioli, H. Karch, M.F. Hanson, K.G.J. Pollock, M.E. Locking, M.E.J. Woolhuse, L. Matthews, J.C. Low, D.L. Gally // Emerg Infect Dis. – 2012. – Vol. 18 (3). – P. 439- 448.
140. Chattaway, M. A. Investigating the link between the presence of enteroaggregative *Escherichia coli* and infectious intestinal disease in the United Kingdom, 1993 to 1996 and 2008 to 2009 / M.A. Chattaway, R. Harris, C. Jenkins //

Euro Surveill. – 2013. Vol. 18 (37). – Режим доступа: doi:10.2807/1560-7917.es2013.18.37.20582.

141. Chattaway, M.A. Enteroaggregative *Escherichia coli* have evolved independently as distinct complexes within the *E. coli* population with varying ability to cause disease / M.A. Chattaway, C. Jenkins, D. Rajendram // PloS ONE. – 2014. – Vol. 29 (11). – e112967.

142. Chattaway, M.A. Evidence of evolving extraintestinal enteroaggregative *Escherichia coli* ST38 clone / M.A. Chattaway, C. Jenkins, H. Ciesielczuk, M. Day, V. DoNascimento, M. Day, I. Rodriguez, A. van Essen-Zandbergen, A-K. Schink, G. Wu, J. Threlfall, M.J. Woodward, N. Coldham, K. Kadlec, S. Schwarz, C. Dierikx, B. Guerra, R. Helmuth, D. Mevius, N. Woodford, J. Wain // Emerg Infect Dis. – 2014. – Vol. 20 (11). – P.1935-1937.

143. Choi, M. L. Comparisons of CTX-M-producing *Escherichia coli* isolates from humans and animals in South Korea / M. L. Choi, S.K. Lim, S. C. Jung, K. S. Ko // J Bacteriology and Virology. – 2014. – Vol. 44 (1). – P. 44-51.

144. Clarke, S.C. Virulence of enteropathogenic *Escherichia coli*, a global pathogen / S.C. Clarke, R.D. Haigh, P.P. Freestone, P.H. Williams // Clin Microbiol Rev. – 2003. – Vol. 16(3). – P. 365-378.

145. Clermont, O. Rapid and simple determination of the *Escherichia coli* phylogenetic group / O. Clermont, S. Bonacorsi, E. Bingen // Appl. Environ. Microbiol. – 2000. – Vol. 66 (10). – P. 4555–4558.

146. Clermont, O. Rapid detection of the O25b-ST131 clone of *Escherichia coli* encompassing the CTX-M-15-producing strains / O. Clermont, H. Dhanji, M. Upton, T.Gibreel, A. Fox, D. Boyd, M. R. Mulvey, P. Nordmann, E. Ruppe, J. L. Sarthou, T. Frank, S. Vimont, G. Arlet, C. Branger, N. Woodford // Antimicrob. Agents Chemother. – 2009. – Vol. 64. – P. 274-277.

147. Clermont, O. Animal and human pathogenic *Escherichia coli* strains share common genetic backgrounds / O. Clermont, M. Olier, C. Hoede, L. Diancourt, S. Brisse, M. Keroudean, J. Glodt, B. Picard, E. Oswald // Infect. Genet. Evol. – 2011. – Vol. 11 (3). – P. 654–662.

148. Clermont, O. The Clermont *Escherichia coli* phylo-typing method revisited: improvement of specificity and detection of new phylo-groups / O. Clermont, J. K. Christenson, E. Denamur, D. M. Gordon // Environ. Microbiol. Rep. – 2013. – Vol. 5 (1). – P. 58–65.
149. Cocclini, F. Antibiotic resistance evaluation and clinical analysis of acute appendicitis; report of 1431 consecutive worldwide patients: A cohort study / F. Coccolini, G. D'Amico, M. Sartelli, F. Catena, G. Montori, M. Ceresoli, R. Manfredi, S. Di Saverio, L. Ansaloni // Inter. J. Surg. – 2016. – Vol. 26. – P. 6-11.
150. Conway, T. Commensal and pathogenic *Escherichia coli* metabolism in the gut / T. Conway, P.S. Cohen // Microbiol Spectr. – 2015. – Vol. 3(3). – Режим доступа: doi:10.1128/microbiolspec.MBP-0006-2014.
151. Cordeiro, F. Evaluation of a multiplex PCR for identification of enteroaggregative *Escherichia coli* / F. Cordeiro, D.G. Pereira, M.R. Rocha, M.D. Asensi, W.P. Elias, L.C. Campos // J Clin. Microbiol. – 2008. – Vol. 46. – P. 828–829.
152. Coura, F. M. Phylogenetic group determination of *Escherichia coli* isolated from animals samples / F.M. Coura, A. Diniz Sde, M.X. Silva, J.M. Mussi, S.M. Barbosa, A.P. Lage, M.B Heinemann // Scientific World Journal. – 2015. – Article 258424.
153. Croxen, M.A. Recent advances in understanding enteric pathogenic *Escherichia coli* / M.A. Croxen, R.J. Law, R. Scholz, K.M. Keeney, M. Wlodarska, B.B. Finlay // Clin. Microbiol. Rev. – 2013. – Vol. 26. – P. 822–880.
154. Dadonaite, B. (2018) – “Diarrheal diseases”/ B. Dadonaite, H. Ritchie // Published online at OurWorldInData.org. [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://ourworldindata.org/diarrheal-diseases>
155. Dale, A.P. Extra-intestinal pathogenic *Escherichia coli* (ExPEC): Disease, carriage and clones / A.P. Dale, N. Woodford // J Infect. – 2015. – Vol. 71(6). – P. 615-626.
156. Dallenne, C. Development of a set of uropathogens PCR assays for the detection of genes encoding important b-lactamases in *Enterobacteriaceae* / C. Dallenne, A. Da Costa, D. Decre, C. Favier, G. Arlet //Antimicrob. Chemother. – 2010. – Vol. 65. – P. 490-495.



157. Day, M.J. Diversity of STs, plasmids and ESBL genes among *Escherichia coli* from humans, animals and food in Germany, the Netherlands and the UK / M.J. Day, I. Rodríguez, A. van Essen-Zandbergen, C. Dierikx, K. Kadlec, A.K. Schink, G. Wu, M.A. Chattaway, V. DoNascimento, J. Wain, R. Helmuth, B. Guerra, S. Schwarz, J. Threlfall, M.J. Woodward, N. Coldham, D. Mevius, N. Woodford // J Antimicrob Chemother. – 2016. – Vol. 71(5). – P. 1178-1182.
158. DebRoy, C. Detection of O antigens in *Escherichia coli* / C. DebRoy, E. Roberts, P.M. Fratamico // Animal Health Res Rev. – 2011. – Vol. 12(2). – P. 169-185.
159. DebRoy, C. Comparison of O-antigen gene clusters of all O-serogroups of *Escherichia coli* and proposal for adopting a new nomenclature for O-typing / C. DebRoy, P.M. Fratamico, X. Yan, G. Baranzoni, Y. Liu, D.S. Needleman, R. Tebbs, C.D. O'Connell, A. Allred, M. Swimley, M. Mwangi, V. Kapur, J.A. R. Garay, E. L. Roberts, R. Katani // PLOS ONE. – 2016. – Vol. 11(4). – Режим доступа: doi:10.1371/journal.pone.0154551.
160. Derakhshandeh, A. Phylogenetic analysis of *Escherichia coli* strains isolated from human samples / A. Derakhshandeh, R. Firouzi, M. Moatamedifar, A. Motamedi, M. Bahadori, Z. Naziri // Mol. Biol. Res. Commun. – 2013. – Vol. 2(4). – P. 143-149.
161. Dormanesh, B. Virulence factors and O-serogroups profiles of uropathogenic *Escherichia coli* isolated from Iranian pediatric patients / B. Dormanesh, F. Safarpour Dehkordi, S. Hosseini, H. Momtaz, R. Mirnejad, M. J. Hoseini, E. Yahaghi, V. Marhiz, E. K. Darian // Iran Red Crescent Med J. – 2014. – Vol. 16(2). – Режим доступа: doi:10.5812/ircmj.14627.
162. Doumith, M. Rapid identification of major *Escherichia coli* Sequence Types causing urinary tract and bloodstream infections / M. Doumith, M. Day, H. Ciesielczuk, R. Hope, A. Underwood, R. Reynolds, J. Wain, D. M. Livermore, N. Woodford // Clin. Microbiol. – 2015. – Vol. 53 (1). – P. 160 – 166.
163. Durso, L.M. Molecular serotyping of *Escherichia coli* O26:H11 / L.M. Durso, J.L. Bono, J.E. Keen // Appl Environ Microbiol. – 2005. – Vol. 71 (8). – P. 4941-4944.
164. Durso, L. M. Molecular serotyping of *Escherichia coli* O111:H8 / L. M. Durso, J. L. Bono, J. E. Keen // J. Microbiological Methods. – 2007. – Vol. 69. – P. 381-383.

165. Ellis, S. J. Identification and characterization of enteroaggregative *Escherichia coli* subtypes associated with human disease / S.J. Ellis, L.C. Crossman, C. J McGrath, M. A. Chattaway, J.M. Holken, B. Brett, L. Bundy, G. L. Kay, J. Wain, S. Schuller // Sci Rep. – 2020. – Vol. 10. – Article 7475.
166. Elias, W.P. Enteroaggregative *Escherichia coli* / W. P. Elias, F. Navarro-Garcia // In book: *Escherichia coli* in the Americans. Springer Int. Publish. – 2016. Chapter 2. – P. 27-57.
167. Erjavec, M. S. Virulence potential for extraintestinal infections among commensal *Escherichia coli* isolated from healthy humans – the Trojan horse within our gut / M.S. Erjavec, D. Zgur- Bertok // FEMS Microbiol Lett. – 2015. – Vol. 362 (5). – fnu061.
168. Escher, M. A severe foodborne outbreak of diarrhoea linked to a canteen in Italy caused by enteroinvasive *Escherichia coli*, an uncommon agent / M. Escher, G. Scavia, S. Morabito, R. Tozzoli, A. Maugliani, S. Cantoni // Epidemiol Infect. – 2014. – Vol. 142. – P. 2559-2566.
169. Estrada-Garcia, T. Enteroaggregative *Escherichia coli*: a pathogen bridging the North and South / T. Estrada-Garcia, I.Perez-Martinez, R. Bernal-Reynaga, M.B. Zaidi // Curr Trop Rep. – 2014. – Vol. 1. – P. 88-96.
170. Etefia, E.U. Virulence markers, phylogenetic evolution, and molecular techniques of uropathogenic *Escherichia coli* / E. U. Etefia, S.A. Ben // J Nat Sci Med. – 2020. – Vol. 3. – P 13-22.
171. European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC), 2018. Shiga toxin/verocytotoxin-producing *Escherichia coli* (STEC/VTEC) infection. Annual epidemiological Report for 2018. – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/documents/shiga-toxin-verocytotoxin-escherichia-coli-annual-epidemiological-report-2018.pdf>
172. European food safety authority and european centre for disease prevention and control the European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2015. EFSA J. – 2016. – Vol. 14 (2). – e04634.

173. Ewers, C. Avian pathogenic, uropathogenic, and newborn meningitis-causing *Escherichia coli*: how closely related are they? / C. Ewers, G. Li, H. Wilking, S. Kiessling, K. Alt // Int J Med Microbiol. – 2007. – Vol. 297. – P. 163–176.
174. Fakruddin, J.A. Occurrence of *Enterobacteriaceae* with serological cross reactivity towards *Salmonella* spp., *Shigella* spp. And *Vibrio cholerae* in food / J.A. Fakruddin, M. Rahaman, M.M. Ahmed, M. Hoque // BMRJ. – 2015. – Vol. 5 (1). – P. 44-51.
175. Fard, M.N. Evaluation of *ehxA*, *stx1*, and *stx2* virulence gene prevalence in cattle *Escherichia coli* isolates by multiplex PCR / M. N. Fard, B. Nezhad, Z. Salehi, A. Parvar // Arch. Razi Ins. – 2005. – Vol. 60. – P. 55-66.
176. Feng, P. Multiplex PCR for detection of trait virulence factors in enterohemorrhagic *Escherichia coli* serotypes / P. Feng, S. R. Monday // Mol. Cel. Probes. – 2000. – Vol. 14. – P. 333-337.
177. Feng, P. Prevalence, characterization and clonal analysis of *Escherichia coli* O157: non-H7 serotypes that carry *eae* alleles / P. Feng, C. Keys, D. Lacher, S.R. Monday, D. Shelton, C. Rozand, M. Rivas, T. Whittam // FEMS Microbiol Lett. – 2010. – Vol. 308 (1). – P. 62-67.
178. Ferdous, M. Molecular characterization and phylogeny of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* isolates obtained from two Dutch regions using whole genome sequencing / M. Ferdous, A.W. Friedrich, H. Grundmann // Clin Microbiol Infect. – 2016. – Vol. 22 (7). – Режим доступа: doi.org/10.1016/j.cmi.2016.03.028.
179. Ferro, T.A.F. Characterization of virulence factors in enteroaggregative and atypical enteropathogenic *Escherichia coli* strains isolated from children with diarrhea / T. A. F. Ferro, F. C. Moraes, A. M. da Silva, C. Porcy, L. A. Soares, C. A. Monteiro, N. T. M. Lobao, F. A. A. de Mello, V. Monteiro-Neto, P. M. S Figueiredo // Adv. Infect. Dis. – 2012. – Vol. 2. – P. 135-142.
180. Fierz, L. Characteristics of shigatoxin-producing *Escherichia coli* strains isolated during 2010-2014 from human infections in Switzerland / L. Fierz, N. Cernela, E. Hauser, M. Nüesch-Inderbinen, R. Stephan // Front Microbiol. – 2017. – Vol. 8. – Режим доступа: doi:10.3389/fmicb.2017.01471.

181. Fleckenstein, J.M. Enterotoxigenic *Escherichia coli* infections / J.M. Fleckenstein, F. M. Kuhlmann // Curr Infect Dis Rep. – 2019. – Vol. 21 (3). – Режим доступа: doi:10.1007/s11908-019-0665-x.
182. Flemming, S. Multicenter evaluation of a sequence-based protocol for subtyping Shiga toxins and standardizing stx nomenclature / S. Flemming, L. D. Teel, L. Beutin // Clin Microbiol. – 2012. – Vol. 50, № 9. – P. 2951-2963.
183. Fratamico, P.M Advances in Molecular Serotyping and Subtyping of *Escherichia coli* / P.M. Fratamico, C. DebRoy, Y. Liu, D.S. Needleman, G.M. Baranzoni, P. Feng // Front Microbiol. – 2016. – Vol. 7. – Article 644.
184. Germani, Y. Prevalence of enteropathogenic, enteroaggregative, and diffusely adherent *Escherichia coli* among isolates from children with diarrhea in New Caledonia / Y. Germani, E. Bégaud, P. Duval, C. Le Bouguénec // J Infect Dis. – 1996. – Vol. 174. – P. 1124–1126.
185. Gerrish, R.S. PCR versus hybridization for detecting virulence genes of enterohemorrhagic *Escherichia coli* / R.S. Gerrish, J.E. Lee, J. Reed, J. Williams // Emerg Infect Dis. – 2007. – Vol. 13, № 8. – P. 1253-1255.
186. Gibreel, T.M. Population structure, virulence potential and antibiotic susceptibility of uropathogenic *Escherichia coli* from Northwest England / T.M. Gibreel, A.R. Dodgson, J. Cheesbrough, A.J. Fox, F.J. Bolton, M. Upton // Antimicrob Chemother. – 2012. – Vol. 67. – P. 346-356.
187. Gilmour, M.W. Sequence-based typing of genetic targets encoded outside of the O-antigen gene cluster is indicative of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* serogroup lineages / M.W. Gilmour, A. B. Olson, A. K. Andrysiak, L-K. Ng, L. Chui // J Med. Microbiol. – 2007. – Vol. 56. – P. 620–628.
188. Girardeau, J.P. Association of virulence genotype with phylogenetic background in comparison to different seropathotypes of shiga toxin-producing *Escherichia coli* isolates / J.P. Girardeau, A. Dalmasso, Y. Bertin, C. Ducrot, S. Bord, V. Livrelli, C. Vernozy-Rozand, C. Martin // J Clin. Microbiol. – 2005. – Vol. 43 (12). – P. 6098–6107.

189. Gomes, A.R. Genotypic characterization of avian *Escherichia coli* by random amplification of polymorphic DNA / A.R. Gomes, L. Muniyappa, G. Krishnappa, V.V.S. Suryanarayana, S. Isioor, B. Prakash, P.G. Hugar // Int J Poult Sci. – 2005. – Vol. 4. – P. 378-381.
190. Gomes, T.A.T. Diarrheagenic *Escherichia coli* / T. A.T. Gomes, W. P. Elias, I. C.A. Scaletsky, B. E.C. Guth, J. F. Rodrigues, R. M.F. Piazza, L.C.S. Ferreira, M. B. Martinez // Brazilian J Microbiol. – 2016. – Vol. 47. – P. 3–30.
191. Gomez-Duarte, O. Acute diarrheal disease caused by enteropathogenic *Escherichia coli* in Colombia / O. Gomez-Duarte // Rev. Chil. Infectol. – 2014. – Vol. 31(5). – P. 577-586.
192. Gonzalez-Escalona, N. Virulence gene profiles and clonal relationships of *Escherichia coli* O26:H11 isolates from feedlot cattle as determined by Whole-Genome Sequencing / N. Gonzalez-Escalona, M. Toro, L.V. Rump, G. Cao, T.G. Nagaraja, J. Meng // Appl Environ Microbiol. – 2016. – Vol. 82 (13). – P. 3900-3912.
193. Guerrieri, C. Typical and atypical enteroaggregative *Escherichia coli* are both virulent in the Galleria mellonella model / C. Guerrieri, M. Pereira, A. Galdino, A. Santos, W. Elias, R. Schuenck, L. Spano // Front. Microbiol. – 2019. – Vol.10. – Режим доступа: doi:10.3389/fmicb.2019.01791.
194. Guion, C.E. Detection of diarrheagenic *Escherichia coli* by use of melting-curve analysis and real-time multiplex PCR / C.E. Guion, T. J. Ochoa, C.M. Walker, F. Barletta, T.G. Cleary // J Clin. Microbiol. – 2008. – Vol. 46 (5). – P. 1752 – 1757.
195. Harrington, S. M. Pathogenesis of enteroaggregative *Escherichia coli* infection / S.M. Harrington, E.G. Dudley, J.P. Nataro// FEMS Microbiol Lett. – 2006. – Vol. 254. – P. 12–18.
196. Hebbelstrup, J. B. Characterization of diarrheagenic enteroaggregative *Escherichia coli* in Danish adults-antibiotic treatment does not reduce duration of diarrhea / J. B. Hebbelstrup, C. Adler Sørensen, S. Hebbelstrup Rye Rasmussen, D. Rejkjær Holm, A. Friis-Møller, J. Engberg, H. C. Mirsepasi-Lauridsen, C. Struve, A. M. Hammerum, L. J. Porsbo, R. F. Petersen, A. M. Petersen, K. A. Krogfelt // Front Cell Infect Microbiol. – 2018. – Vol. 8. – Режим доступа: doi:10.3389/fmicb.2018.00306.

197. Henker, J. Пробиотик *Escherichia coli* штамма Nissle 1917 (ECN) для успешного поддержания ремиссии язвенного колита у детей и подростков: открытое пилотное исследование / J. Henker, S. Muller, M.W. Laass, A. Schreiner, J. Schulze // Современная педиатрия. – 2013. – Vol. 4 (52). – P. 32 – 34.
198. Henker, J. Пробиотик *Escherichia coli* штамм Nissle 1917 в сравнении с плацебо при лечении диареи продолжительностью более 4 дней грудного и младшего возраста / J. Henker, M. W. Laass, B. M. Blokhin, V. G. Maydannik, Y. K. Bolbot, M. Elze, C. Wolff, A. Schreiner, J. Schulze // Современная педиатрия. – 2013. – Vol. 3(51). – P. 25- 30.
199. Herzog, K. Diarrheagenic enteroaggregative *Escherichia coli* causing urinary tract infection and bacteremia leading to sepsis / K. Herzog, J. Engeler Dusel, M. Hugentobler // Infect. – 2014. – Vol. 42. – P. 441–444.
200. Highland, M. A. Extraintestinal pathogenic *Escherichia coli*–induced pneumonia in three kittens and fecal prevalence in a clinically healthy cohort population / M. A. Highland, B. A. Byrne, C. DebRoy, E. M. Samitz, T. S. Peterson, K. L. Oslund // J Vet. Diagn. Invest. – 2009. – Vol. 21. – P. 609–615.
201. Hoseinzadeh, T. Phylogenetic background of enterotoxigenic and enteroinvasive *Escherichia coli* from patients with diarrhea in Sirjan, Iran / T. Hoseinzadeh, R. Ghanbarpour, F. Rokhbakhsh-Zamin // Iran. J Microbiol. – 2016. – Vol. 8 (3). – P. 187-192.
202. Hu, J. Enteropathogenic *Escherichia coli*: foe or innocent bystander? / J. Hu, A.G. Torres // Clin Microbiol Infect. – 2015. – Vol. 21 (8). – P. 729-734.
203. Huang, D.B. Enteroaggregative *Escherichia coli* is a cause of acute diarrheal illness: a meta-analysis / D.B. Huang, J.P. Nataro, H.L. DuPont // Clin Infect Dis. – 2006. – Vol. 43. – P. 556–563.
204. Huang, D.B. Virulence characteristics and the molecular epidemiology of enteroaggregative *Escherichia coli* isolates from travellers to developing countries / D.B. Huang, J.A. Mohamed, J.P. Nataro, H.L. DuPont, Z.D. Jiang, P.C. Okhuysen // J Med Microbiol. – 2007. – Vol. 56. – P. 1386–1392.
205. Human Microbiome Project. [Электронный ресурс]. – Режим доступа:

<http://www.hmp-dacc.org>

206. Huppertz, H. I. Acute and chronic diarrhoea and abdominal colic associated with enteroaggregative *Escherichia coli* in young children living in western Europe / H.I. Huppertz, S. Rutkowski, S. Aleksic, H. Karch // Lancet. – 1997. – Vol. 349. – P. 1660–1662.
207. Iguchi, A. Wide distribution of O157-antigen biosynthesis gene clusters in *Escherichia coli* / A. Iguchi, H. Shirai, K. Seto, T. Ooka, Y. Ogura, T. Hayashi, K. Osawa, R. Osawa // PloS One. – 2011. – Vol. 6 (8). – Режим доступа: doi:10.1371/journal.pone.0023250.
208. Iguchi, A. *Escherichia coli* O- genotyping PCR: a comprehensive and practical platform for molecular O serogrouping / A. Iguchi, S. Iouda, K. Seto, T. Morita-Ishihara, F. Scheutz, M. Ohnishi // J Clin Microbiol. – 2015. – Vol. 53 (8). – P. 2427–2432.
209. The International Collaborating Centre for Reference and Research on *Escherichia* and *Klebsiella*/ Identification of three *stx1* and seven *stx2* subtypes of Shiga toxin encoding genes of *Escherichia coli* by conventional PCR amplification Version 7 / Statens serum institute //- [Электронный ресурс]. – Режим доступа: [https://www.ssi.dk/-/media/arkiv/dk/sygdomme-beredskab-og-forskning/sygdomsover\\_vagning/referencelaboratorier/stx-detection--subtyping-protocolrev7.pdf?la=da](https://www.ssi.dk/-/media/arkiv/dk/sygdomme-beredskab-og-forskning/sygdomsover_vagning/referencelaboratorier/stx-detection--subtyping-protocolrev7.pdf?la=da)
210. Iranpour, D. Phylogenetic groups of *Escherichia coli* strains from patients with urinary tract infection in Iran based on the new Clermont phylotyping method / D. Iranpour, M. Hassanpour, H. Ansari, S. Tajbakhsh, G. Khamisipour, A Najafi // BioMed Res Int. – 2015. – Режим доступа: doi:10.1155/2015/846219.
211. Ishii, S. Relationship between phylogenetic groups, genotypic clusters, and virulence gene profiles of *Escherichia coli* strains from diverse human and animal sources / S. Ishii, K.P. Meyer, M.J. Sadowsky // Appl Environ Microbiol. – 2007. Vol. 73 (18). – P. 5703-5710.
212. Ishijima, N. Identification of new virulent clade enterohemorrhagic *Escherichia coli* O26:H11/H- Sequence type 29 / N. Ishijima, K.I. Lee, T. Kuwahara, H. Nakayama-Imahiji, S. Yoneda, A. Iguchi, Y. Ogura, T. Hayashi, M. Ohnishi, S. Iyoda // Sci Rep. –

2017. – Vol. 7. – Режим доступа: doi:10.1038/srep43136.

213. Jafari, A. *Escherichia coli*: a brief review of diarrheagenic pathotypes and their role in diarrheal diseases in Iran / A. Jafari, M. Aslani, S. Bouzari // Iranian Journal of Microbiology. – 2012. – Vol. 4 (3). – P. 102-117.

214. Jenkins, C. Detection of enteroaggregative *Escherichia coli* in fecal samples from patients in the community with diarrhea / C. Jenkins, M. Tembo, H. Chart, T. Cheasty, G. A. Willshaw, A.D. Phillips, D. Tompkins, H. Smit // J Med. Microbiol. – 2006. – Vol. 55. – P. 1493 – 1497.

215. Jenkins, C. Commentary: Whole-Genome Sequencing Data for Serotyping *Escherichia coli*—It's Time for a Change! / C. Jenkins // Clin Microbiol. – 2015. – Vol. 53 (8). – P. 2402-2403.

216. Jenkins, C. Enteroaggregative *Escherichia coli* / C. Jenkins // Curr Top Microbiol Immunol. – 2018. – Vol.416. – P. 27-50.

217. Jensen, B. H. Epidemiology and clinical manifestations of enteroaggregative *Escherichia coli* / B. H. Jensen, K. E. P. Olsen, C. Struve, K. A. Krogfelt, A. M. Petersen // Clin. Microbiol. Rev. – 2014. – Vol. 27. – P.614–630.

218. Joensen, K. G. Rapid and easy *in Silico* serotyping of *Escherichia coli* isolates by use of Whole-Genome Sequencing data / K G. Joensen, A. M. Tetzschner, A. Iguchi, F. M. Aarestrup, F.Scheutz // Clin Microbiol. – 2015. – Vol. 53. – P. 2410-2426.

219. Johnson, J.R. Extended virulence genotypes of *Escherichia coli* strains from patients with urosepsis in relation to phylogeny and host compromise / JR. Johnson, AL. Stell // Infect. Dis. – 2000. – Vol. 181. – P. 53-59.

220. Johnson, J. R. Molecular epidemiology of extraintestinal pathogenic (uropathogenic) *Escherichia coli* / J. R. Johnson, T. A. Russo // Int J Med Microbiol. – 2005. – Vol. 295(6-7). – P. 383-404.

221. Johnson, J. R. Virulence genotypes and phylogenetic background of *Escherichia coli* serogroup O6 isolates from humans, dogs, and cats / J.R. Johnson, B. Johnston, C.R. Clabots, M. A. Kuskowski, E. Roberts, C. DebRoy // Clin Microbiol. – 2008. – Vol. 46 (2). – P. 417-422.

222. Johnson, J.R. *Escherichia coli* Sequence Type ST131 as the major cause of



- serious multidrug-resistant *E. coli* infections in the United States / J.R. Johnson, B. Johnston, C. Clabots, M. A. Kuskowski, M. Castanheira // Clin Infect Dis. – 2010. – Vol. 51(3). – P. 286-294.
223. Johnson, J. R. Molecular epidemiology of extraintestinal pathogenic *Escherichia coli* / J. R. Johnson, T. A. Russo // EcoSal Plus. – 2018. – Vol. 8(1). – Режим доступа: doi:10.1128/ecosalplus.ESP-0004-2017.
224. Johnson, T.J. Evolution of the *iss* gene in *Escherichia coli* / T.J. Johnson, Y.M. Wannemuehler, L.K. Nolan // Appl Environ Microbiol. – 2008. – Vol. 74(8). – P. 2360-2369.
225. Johnston, B.C. Measurement issues in trials of pediatric acute diarrheal diseases: a systematic review // B.C. Johnston, L. Shamseer, B.R. da Costa, R.T. Tsuyuki, S. Vohra// Pediatrics. – 2010. – Vol. 126 (1). – Режим доступа: doi:10.1542/peds.2009-3667.
226. Kaneko, A. Molecular heterogeneity of heat-stable toxin-producing and non-producing *Escherichia coli* O25 strains isolated in Japan / A. Kaneko, T. Fujino, C. Sugawara, Y. Kagami, H. Miyadai, T. Kirikae, K. Kawahara // Microbiol Immunol. – 2001. – Vol. 45(6). – P. 433-438.
227. Kaper, J. Defining EPEC. In: Proceedings of the International Symposium on Enteropathogenic *Escherichia coli* (EPEC) / J. Kaper // Rev Microbiol. – 1996. – Vol. 27. – P. 130 – 133.
228. Kaper, J. Pathogenic *Escherichia coli* / J. Kaper, J. Nataro, H. Mobley // Nat Rev Microbiol. – 2004. – Vol. 2. – P. 123–140.
229. Kataria, J.L. Detection and molecular characterization of Shiga toxin producing *Escherichia coli* autoagglutinating adhesion gene (*saa*) from piglets in Mizoram / J.L. Kataria, T.K. Dutta, P. Roychoudhury, J.G. Tiwari // Veterinary World. – 2014. – Vol. 7. – P. 373-376.
230. Kaur, P. Enteroaggregative *Escherichia coli*: an emerging enteric food borne pathogen/ P. Kaur, A. Chakraborti, A. Asea // Hindawi Publishing Corporation Interdisciplinary Perspectives on Infectious Diseases. – 2010. – Режим доступа: doi:10.1155/2010254159.

231. Khorshidi, A. Characterization of virulence genes in typical and atypical enteropathogenic *Escherichia coli* / A. Khorshidi, M. Motallebi-Kashani, M. Rohani, A. Piroozmand // Scientific Research and Essays. – 2011. – Vol. 6 (31). – P. 6600-6605.
232. Kim, K.S. Human meningitis-associated *Escherichia coli* / K.S. Kim // EcoSal Plus. – 2016. – Vol. 7(1). – Режим доступа: doi:10.1128/ecosalplus.ESP-0015-2015.
233. Kimata, K. Rapid categorization of pathogenic *Escherichia coli* by multiplex PCR / K. Kimata, T. Shima, M. Shimizu, D. Tanaka, J. Isobe, Y. Gyobu // Microbiol Immunol. – 2005. – Vol. 49. – P. 485-492.
234. Kingombe, C. Molecular strategies for the detection, identification, and differentiation between enteroinvasive *Escherichia coli* and *Shigella spp.* / C. Kingombe, M. Cerqueira – Campos, J. Farber // J. Food Prot. – 2005. – Vol. 68 (2). – P. 239–245.
235. Köser, C.U. Routine use of microbial Whole Genome Sequencing in diagnostic and public health microbiology / C.U. Köser, M.J. Ellington, E.J.P. Cartwright, S.H. Gillespie, N.M. Brown, M. Farrington // PloS Pathogens. – 2012. – Vol. 8 (8). – Article e1002824.
236. Koutsoumanis, K. Whole genome sequencing and metagenomics for outbreak investigation, source attribution and risk assessment of food-born microorganisms / K. Koutsoumanis, A. Alltnde, A. Alvarez-Ordenez, D. Bolton, S. Bover-Cid, M. Chemaly, R. Davies, A. De Sesare, F. Hilbert, R. Lindqvist, M. Nauta, L. Peixe, G. Ru, M. Simmons // EFSA Journal. – 2019. – Vol. 17 (12). – Article 5898.
237. Koutsoumanis, K. Pathogenicity assessment of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) and the public health risk posed by contamination of food with STEC // K. Koutsoumanis, A. Alltnde, A. Alvarez-Ordenez, S. Bover-Cid, M. Chemaly, R. Davies, A. De Sesare, L. Herman // EFSA Journal. – 2020. – Vol. 18 (1). – Article 5967.
238. Kruger, A. Genetic characterization of shiga toxin-producing *Escherichia coli* O26:H11 strains isolated from animal, food, and clinical samples / A. Kruger, P. M. A. Lucchesi, A. M. Sanso, A.I. Etcheverria, A. V. Bustamante, J. Burgan, L. Fernandez, D. Fernandez, G. Leotta, A. W. Friedrich, N.L. Padola, J. W. A. Rossen // Frontiers in

Cellular and Infection Microbiology. – 2015. – Vol. 5. – Article 74.

239. Kudva, I.T. Characterization of *Escherichia coli* O157:H7 and other Shiga toxin-producing *E. coli* serotypes isolated from sheep. / I.T. Kudva, P.G. Hatfield, C.J. Hovde // Clin. Microbiol. – 1997. – Vol. 35 (4). – P. 892–899.

240. Lee, J. G. Characteristics and pathogenic role of adherent-invasive *Escherichia coli* in inflammatory bowel disease: Potential impact on clinical outcomes / J.G. Lee, D.S. Han, S.V. Jo, A.R. Lee, C.H. Park, C.S. Eun // PloS ONE. – 2019. – Vol. 14 (4). – Режим доступа: doi:10.1371/journal.pone.0216165.

241. Lee, W. C. Characteristics of extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing *Escherichia coli* isolated from fecal samples of piglets with diarrhea in central and southern Taiwan in 2015 / W.C. Lee, K.S. Yeh // BMC Vet Res. – 2017. – Vol. 13 (1). – Режим доступа: doi:10.1186/s12917-017-0986-7.

242. Lee, S. Phylogenetic groups and virulence factors in pathogenic and commensal strains of *Escherichia coli* and their association with *bla* CTX-M / S. Lee, J.K. Yu, K. Park, E-J. Oh, S-Y. Kim, Y-J. Park // Ann Clin Lab Sci. – 2010. – Vol. 40 (4). – P. 361–367.

243. Leimbach, A. *E. coli* as an all-rounder: the thin line between commensalism and pathogenicity / A. Leimbach, J. Hacker, U. Dobrindt // Curr Top Microbiol Immunol. 2013. – Vol.358. – P.3–32.

244. Li, D. A multiplex PCR method to detect 14 *Escherichia coli* serogroups associated with urinary tract infections / D. Li, B. Liu, M. Chen, D. Guo, X. Guo, F. Liu, L. Feng, L. Wang // Microbiol. Methods. – 2010. – Vol. 82. – P. 71–77.

245. Li, Y. Iron-regulated gene *ireA* in avian pathogenic *Escherichia coli* participates in adhesion and stress-resistance / Y. Li, J. Dai, X. Zhuge, H. Wang, L. Hu, J. Ren, L. Chen, D. Li, F.Tang // BMC Vet Res. – 2016. – Vol. 12 (1). – Режим доступа: doi:10.1186/s12917-016-0800-y.

246. Lima, I.F.N. Prevalence of enteroaggregative *Escherichia coli* and its virulence-related genes in a case–control study among children from north-eastern Brazil / I.F.N. Lima, N. Boisen, J.S. Quetz, A. Havt, E. Carvalho, A.M. Soares, N.L. Lima, R.M.S. Mota, J.P. Nataro, R.G. Guerrant, A.A.M. Lima // Med. Microbiol. – 2013. – Vol. 62. –

P. 683-693.

247. Lindsey, R.L. Implementation of Whole Genome Sequencing (WGS) for identification and characterization of Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* (STEC) in the United States / R.L. Lindsey, H. Pouseele, J. C. Chen, N. A. Strockbine, H.A. Carleton // Front Microbiol. – 2016. – Vol. 7. – Режим доступа: doi:10.3389/fmicb.2016.00766.

248. Lindstedt, B. A. High frequency of hybrid *Escherichia coli* strains with combined Intestinal Pathogenic *Escherichia coli* (IPEC) and Extraintestinal Pathogenic *Escherichia coli* (ExPEC) virulence factors isolated from human faecal samples / B.A. Lindstedt, M.D. Finton, D. Porcellato, L.T. Brandal // BMC Infect Dis. – 2018. – Vol. 18 (1). – Режим доступа: doi:10.1186/s12879-018-3449-2.

249. Liu, Y. *Escherichia coli* O-Antigen gene clusters of serogroups O62, O68, O131, O140, O142, and O163: DNA sequences and similarity between O62 and O68, and PCR-based serogrouping / Y. Liu, X. Yan, C. DebRoy, P.M. Fratamico, D.S. Needleman, R.W. Li, W. Wang, L. Losada, L. Brinkac, D. Radune, M. Toro, N. Hegde, J. Meng // Biosensors. – 2015. – Vol. 5 (1). – P. 51-68.

250. Lob, S.H. Epidemiology and susceptibility of Gram-negative appendicitis pathogens: SMART 2008-2010 / S.H. Lob, R.E. Badal, S.K. Bouchillion, S.P. Hawser, M.A. Hackel, D.J. Hoban // Sur Infect. – 2013. – Vol. 14 (2). – P. 203-208.

251. Luiz, R. Typical and Atypical Enteropathogenic *Escherichia coli* / R. Luiz, L. Trabulsi, R. Keller, T. Tardelli // Emerging Infectious Diseases. – 2002. – Vol. 8 (5). – P. 508-513.

252. Madic, J. Detection of shiga toxin-producing *Escherichia coli* serotypes O26:H11, O103:H2, O111:H8, O145:H28, and O157:H7 in raw-milk cheese by using multiplex real-time PCR / J. Madic, N. Vingadassalon, C. Peytavin de Garam, M. Marault, F. Scheutz, H. Brugere, E. Jamet, F. Auvray // Appl. Environ. Microbiol. – 2011. – Vol. 77 (6). – P. 2035-2041.

253. Magiorakos, A.P. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standart definitions for acquired resistance / A.P. Magiorakos, A. Srinivasan, R.B. Carey, Y. Carmeli, M.E.

- Falagas, G.C. Getal // Clin Microbiol Infect. – 2012. – Vol. 18 (3). – P. 268-281.
254. Manges, A.R. Food-borne origins of *Escherichia coli* causing extraintestinal infections / A.R. Manges, R. A. Manges, J. R. Johnson // J Clin. Infect. Dis. – 2012. – Vol. 55 (5). – P. 712–719.
255. Mansan-Almeda, R. Diffusely adherent *Escherichia coli* strains isolated from children and adults constitute two different population / R. Mansan-Almeda, L.A. Pereira, L.G. Giugliano // BMC Microbiology. – 2013. – Режим доступа: doi:10.1186/1471-2180-13-22.
256. Mariani-Kurkdjian, P. *Escherichia coli* 0104:H4: a hybrid pathogen / P. Mariani-Kurkdjian, E. Bingen // Arch Pediatr. – 2012. – Vol. 3. – Режим доступа: doi:10.1016/S0929-693X(12)71281-2.
257. Marialouis, X.A. Antibiotic resistance, RAPD-PCR typing of multiple drug resistant strains of *Escherichia coli* from urinary tract infection (UTI) / X.A. Marialouis, A. Santhanam// Clin Diagn Res. – 2016. – Vol. 10 (3). – P. 5-9.
258. Markland, S.M. Old friends in new places: exploring the role of extraintestinal *E. coli* in intestinal disease and foodborne illness / S.M. Markland, K.J. LeStrange, M. Sharma, K.E. Knier // Zoonoses Public Health. – 2015. – Vol. 62 (7). – P. 491-496.
259. Matsumura, Y. Rapid identification of different *Escherichia coli* sequence type 131 clades / Y. Matsumura, J. D. D. Pitout, G. Peirano, R. DeVinney, T. Noguchi, M. Yamamoto, R. Gomi, T. Matsuda, S. Nakano, M. Nagao, M. Tanaka, S. Ichiyama // Antimicrob. Agents Chemother. – 2017. – Vol. 61 (8). – e00179-17.
260. McWilliams, B.D. EHEC adhesins / B.D. McWilliams, A.G. Torres // Microbiol Spectr. – 2014. – Vol. 2 (2). – Режим доступа: doi:10.1128/microbiolspec.EHEC-0003-2013.
261. Mello Santos, A.C. Diversity of hybrid – and hetero-pathogenic *Escherichia coli* and their potential implication in more severe diseases / A.C. Mello Santos, F. Fernandes Santos, R. M. Silva, T. A. Tardelli Gomes // Front. Cell. Infect. Microbiol. – 2020. – Vol. 10. – Режим доступа: doi:10.3389/fcimb.2020.00339.
262. Menard, L. P. Expression, purification, and biochemical characterization of enteroaggregative *Escherichia coli* heat-stable enterotoxin 1 / L.P. Menard, J.G.

- Lussier, F. Lepine, C. Paiva de Sousa, J.D. Dubreuil // *Protein Expr Purif.* – 2004. – Vol. 33. – P. 223–231.
263. MetaHIT Project. [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://www.metahit.eu>
264. Meza-Segura, M. Cytolethal distending toxin-producing *Escherichia coli* strains causing severe diarrhoea in young Mexican children / M. Meza-Segura, M. B. Zaidi, S. Maldonado-Puga, J. Huerta-Cantillo, L. Chavez-Dueñas, F. Navarro-Garcia, M. M. Estrada-Garcia Teresa // *Microbiol Sci.* – 2017. – Vol. 4 (2). – Режим доступа: doi:10.1099/jmmcr.0.005079.
265. Michelacci, V. Tracing back the evolutionary route of enteroinvasive *Escherichia coli* (EIEC) and *Shigella* through the example of the highly pathogenic O96:H19 EIEC clone / V. Michelacci, R. Tozzoli, S. Arancia, A. D'Angelo, A. Boni, A. Knijn, G. Prosseda, D. R. Greig, C. Jenkins, T. Camou, A. Sirok, A. Navarro, F. Schelotto, G. Varela, S. Morabito // *Front Cell Infect Microbiol.* – 2020. – Vol. 10. – Режим доступа: doi:10.3389/fcimb.2020.00260.
266. Miranda-Estrada, L.I. Relationship between virulence factors, resistance to antibiotics and phylogenetic groups of uropathogenic *Escherichia coli* in two locations in Mexico / L. I. Miranda-Estrada, M. Ruíz-Rosas, J. Molina-López, I. Parra-Rojas, E. González-Villalobos, N. Castro-Alarcón // *Enferm. Infecc. Microbiol. Clin.* – 2017. – Vol. 35 (7). – P. 426–433.
267. Miyagi, H. Appendical perforation by infection with extended-spectrum beta-lactamase (ESBL)-producing *Escherichia coli*: case report / H. Miyagi, T. Okada, S. Honda, M. Minato, A. Taketomi // *Surg Sci.* – 2012. – Vol. 3. – P. 53–55.
268. Monteiro, B.T. The dispersin-encoding gene (*aap*) is not restricted to enteroaggregative *Escherichia coli* / B.T. Monteiro, L.C. Campos, M.P. Sircili // *Diagn Microbiol Infect Dis.* – 2009. – Vol. 65. – P. 81–84.
269. Moon, J.Y. Molecular epidemiological characteristics of virulence factors on enteroaggregative *E. coli* / J.Y. Moon, J.H. Park, Y.B. Kim // *FEMS Microbiol Lett.* – 2005. – Vol. 253. – P. 215–220.
270. Morin, N. Characterization of the AggR regulon in enteroaggregative

- Escherichia coli* / N. Morin, A. E. Santiago, R.K. Ernst, S. J. Guillot, J. P. Nataro // Infect. And Immun. – 2013. – Vol. 81 (1). – P. 122–132.
271. Mosquito, S. Diarrheagenic *Escherichia coli* phylogroups are associated with antibiotic resistance and duration of diarrheal episode / S. Mosquito, M. J. Pons, M. Riveros, J. Ruiz, T. J. Ochoa // Hindawi Publishing Corporation Scientific World Journal. – 2015. – Vol. 2015. – Article 610403.
272. Mostafa, M. M. A. Molecular characterization of diarrheagenic *Escherichia coli* from Libya / M. M. A. Mostafa, K. M. Zienat, J. D. Klena, F. A. Salwa Fouad, A. A. M. Tarek, K. S. Ghenghesh // J Trop. Med. Hyg. – 2012. – Vol. 86 (5). – P. 866–871.
273. Muller, D. Identification of unconventional intestinal pathogenic *Escherichia coli* isolates expressing intermediate virulence factor profiles by using a novel single-step multiplex PCR / D. Muller, L. Greune, G. Heusipp, H. Karch, A. Fruth, H. Tschape, M. A. Schmidt // Appl. Environ. Microbiol. – 2007. – Vol. 73 (10). – P. 3380–3390.
274. Naber, H.S. Bacterial profile associated with appendicitis / H.S. Naber, F.K. Ktab // Int. Res. J. Medical Sci. – 2013. – Vol. 1(2). – P. 1-4.
275. Nakhjavani, F.A. Molecular analysis of typical and atypical enteropathogenic *Escherichia coli* (EPEC) isolated from children with diarrhea / F.A. Nakhjavani, M. Emaneini, H. Hosseini, H. Iman-Eini, M. Aligholi, F. Jabalameli, M.T. Haghi-Ashtiani, M. Taherikalani, A. Mirsalehian // J Med Microbiol. – 2013. – Vol 62. – P. 191-195.
276. Nataro, J. P. Heterogeneity of enteroaggregative *Escherichia coli* virulence demonstrated in volunteers / J. P. Nataro, Y. Deng, S. Cookson, A. Cravioto, S. J. Savarino, L. D. Guers // J. Infect. Dis. – 1995. – Vol. 171. – P. 465–468.
277. Nataro, J.P. Diarrheagenic *Escherichia coli* / J.P. Nataro, J.B. Kaper // Clin. Microbiol. Rev. – 1998. – Vol. 11 (1). – P.142 – 201.
278. Navarro-Garcia, F. Pic, an autotransporter protein secreted by different pathogens in the *Enterobacteriaceae* family, is a potent mucus secretagogue / F. Navarro-Garcia, J. Gutierrez-Jimenez, C. Garcia-Tovar, L.A. Castro, H. Salazar-Gonzalez, V. Cordova // Infect Immun. – 2010. Vol. 78. – P. 4101– 4109.
279. Navarro-Garcia, F. Autotransporters and virulence of enteroaggregative *E. coli* /

F. Navarro-Garcia, W.P. Elias // Gut Microbes. – 2011. – Vol. 2. – P. 13–24.

280. Nave, H.H. Virulence gene profile and multilocus variable-number tandem-repeat analysis (MLVA) of Enteroinvasive *Escherichia coli* (EIEC) isolated from patients with diarrhea in Kerman, Iran / H.H. Nave, S. Mansouri, M.T. Moghadam, M. Moradi // Jundishapur J Microbiol. – 2016. – Vol. 9 (6). – e33529.

281. Nazemi, A. Distribution of pathogenic genes *aatA*, *aap*, *aggR*, among uropathogenic *Escherichia coli* (UPEC) and their linkage with *stbA* gene / A. Nazemi, M. Mirinargasi, N. Merikhi, S.H. Sharifi // Indian J Microbiol. – 2011. – Vol. 51. – P. 355–358.

282. Newitt, S. Two linked enteroinvasive *Escherichia coli* outbreaks, Nottingham, UK, June 2014 / S. Newitt, V. MacGregor, V. Robbins, L. Bayliss, M.A. Chattaway, T. Dallman, D. Ready, H. Aird, R. Puleston, J. Hawker // Emerg Infect Dis. – 2016. – Vol. 22(7). – P. 1178-1184.

283. Nicholson, B.A. Genetic characterization of ExPEC-like virulence plasmids among a subset of NMEC / B.A. Nicholson, A.C. West, P. Mangiamale, N. Barbieri, Y. Wannemuehler, L.K. Nolan, C.M. Logue, G. Li // PloS One. – 2016. – Vol. 11 (1). – Режим доступа: doi:10.1371/journal.pone.0147757.

284. Nicolas-Chanoin, M-H. *Escherichia coli* ST131, an intriguing clonal group / M-H. Nicolas-Chanoin, X. Bertrand, J-Y. Madec // Clin. Microbiol. Rev. – 2014. – Vol. 27 (3). – P. 543-574.

285. Nojoomi, F. The relation of phylogroups, serogroups, virulence factors and resistance pattern of *Escherichia coli* isolated from children with septicemia / F. Nojoomi, A. Ghasemian // New Microbe and New Infect. – 2019. – Vol. 29. – Article 100517.

286. Nowrouzian, F. P fimbriae, capsule and aerobactin characterize colonic resident *Escherichia coli* / F. Nowrouzian, I. Adlerberth, A. Wold // Epidemiol. Infect. – 2001. – Vol. 126. – P. 11-18.

287. Nowrouzian, F.L. *Escherichia coli* strains belonging to phylogenetic group B2 have superior capacity to persist in the intestinal microflora of infants / F.L. Nowrouzian, A.E. Wold, I. Adlerberth // Infect Dis. – 2005. – Vol. 191 (7). – P. 1078-



1083.

288. Nuesch-Inderbinen, M. T. Characteristics of enteroaggregative *Escherichia coli* isolated from healthy carriers and from patients with diarrhoea / M. T. Nuesch-Inderbinen, E. Hofer, H. Hachler, L. Beutin, R. Stephan // J Med. Microbiol. – 2013. – Vol. 62. – P. 1828–1834.
289. Nunes, K.O. Enteroaggregative *Escherichia coli* with uropathogenic characteristics are present in feces of diarrheic and healthy children / K.O. Nunes, A.C.P. Santos, S.Y. Bando, R.M. Silva, T.A.T. Gomes, W.P. Elias // Pathogens and disease. – 2017. – Vol. 75 (8). – Article ftx106.
290. Ochoa, T.J. Enteropathogenic *Escherichia coli* infection in children / T.J. Ochoa, C.A. Contreras // Curr Opin Infect Dis. – 2011. – Vol. 24 (5). – P. 478-483.
291. Ogura, Y. Population structure of *Escherichia coli* O26:H11 with recent and repeated stx2 acquisition in multiple lineages / Y. Ogura, Y. Gotoh, T. Itoh, M. P. Sato, K. Seto, S. Yoshino, J. Isobe, Y. Etoh, M. Kurogi, K. Kimata, E. Maeda, D. Pierard, M. Kusumoto, M. Akiba, K. Tominaga, Y. Kirino, Y. Kato, K. Shirahige, T. Ooka, N. Ishijima, K. Lee, S. Iyoda, J. G.Mainil, T. Hayashi // Microbiol Genomics. – 2017. – Vol. 3 (11). – Режим доступа: doi:10.1099/mgen.0.000141.
292. Okeke, I. N. Heterogeneous virulence of enteroaggregative *Escherichia coli* strains isolated from children in southwest Nigeria. / I. N. Okeke, A. Lamikanra, J. Czeczulin, F. Dubovsky, J. B. Kaper, J. P. Nataro // J. Infect. Dis. – 2000. – Vol.181. – P.252–260.
293. Olowe, O.A. Pathotyping bla CTX-M *Escherichia coli* from Nigeria / O.A. Olowe, S. Choudhary, P. Schierack, L. H. Wieler, O. B. Mekanjuola, A. B. Olayemi, M. Anjum // European J Microbiol. Immunol. – 2013. – Vol. 3. – P. 120–125.
294. Orskov, F. *Escherichia coli* serotyping and disease in man and animals / F. Orskov, I. Orskov // Can J Microbiol. – 1992. – Vol. 38 (7). – P. 99-704.
295. Pabalan, N. Enteroaggregative *Escherichia coli* and acute diarrhea in children: a meta-analysis of South Asian populations / N. Pabalan, E. Singian, H. Jarjanazi, T. S. Steiner // Eur J Clin Microbiol Infect Dis. – 2013. – Vol. 32. – P. 597–607.
296. Park, J.Y. Prevalence and characteristics of sequence type 131 *Escherichia coli*

- isolated from children with bacteremia in 2000-2015 / J.Y. Park, K.W. Yun, E.H. Choi, H.J. Lee // *Microbial Drug Resistance*. – 2018. – Vol. 24 (10). – P. 1552-1558.
297. Parsons, B.D. Detection, characterization, and typing of shiga toxin-producing *Escherichia coli* / B.D. Parsons, N. Zelyas, B.M. Berekger, L. Chui // *Front Microbiol*. – 2016. – Vol. 7. – Режим доступа: doi:10.3389/fmicb.2016.00478.
298. Pasqua, M. The intriguing evolutionary journey of enteroinvasive *E. coli* (EIEC) toward pathogenicity / M. Pasqua, V. Michelacci, M.L. Di Martino, R. Tozzoli, M. grossi, B. Colonna, S. Morabito, G. Prosseda // *Front Microbiol*. – 2017. – Vol. 8. – Режим доступа: doi:10.3389/fmicb.2017.02390.
299. Paton, A.W. Molecular characterization of a Shiga-toxigenic *Escherichia coli* O113:H21 strain lacking *eae* responsible for a cluster of cases of hemolytic-uremic syndrome / A.W. Paton, M.C. Woodrow, R. Doyle // *J Clin Microbiol*. – 1999. – Vol. 37. – P. 3357–3361.
300. Paton, A.W. Direct detection and characterization of shiga toxigenic *Escherichia coli* by multiplex PCR for *stx1*, *stx2*, *eae*, *ehxA*, and *saa* / A.W. Paton, J.C. Paton // *Clin Microbiol*. – 2002. – Vol. 40(1). – P. 271-274.
301. Peirano, G. High prevalence of ST131 isolates producing CTX-M-15 and CTX-M-14 among extended-spectrum- $\beta$ -lactamase-producing *Escherichia coli* isolated from Canada / G. Peirano, D. Richardson, J. Nigrin, A. McGeer, V. Loo, B. Toye, M. Alfa, C. Pienaar, P. Kibsey, J. Pitout // *Antimicrob Agents Chemother*. – 2010. Vol. 54 (3). – P. 1327-1330.
302. Peirano, G. Molecular epidemiology over an 11-year period (2000 to 2010) of extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing *Escherichia coli* causing bacteremia in a centralized Canadian region / G. Peirano, A. K. van der Bij, D.B. Gregson, J.D. Pitout // *Clin Microbiol*. – 2012. – Vol. 50(2). – P. 295 – 299.
303. Persson, S. Subtyping method for *Escherichia coli* shiga toxin (verocytotoxin) 2 variants and correlations to clinical manifestations / S. Persson, K.E. Olsen, S. Ethelberg, F. Scheutz // *J Clin Microbiol*. – 2007. – Vol. 45 (6). – P. 2020-2024.
304. Piazza, R. M. F. Molecular and phenotypic characterization of *Escherichia coli* O26:H8 among diarrheagenic *E. coli* O26 strains isolated in Brazil / R. M. F. Piazza, S.

Delannoy, P. Fach, H. O. Saridakis, M. Z. Pedroso, L. B. Rocha, T. A. T. Gomes, M. A. M. Vieira, L. Beutin, B. E. C. Guth // *Appl Environ Microbiol.* – 2013. – Vol. 79 (22). – P. 6847- 6854.

305. Poolman, J.T. Extraintestinal pathogenic *Escherichia coli*, a common human pathogen: challenges for vaccine development and progress in the field / J.T. Poolman, M. Wacker // *J Infect. Dis.* – 2016. – Vol. 213 (1). – P. 6-13.

306. Presterl, E. Frequency and virulence properties of diarrheagenic *Escherichia coli* in children with diarrhea in Gabon / E. Presterl, R. Zwick, S. Reichmann, A. Aichelburg, S. Winkler, P. Kremsner, W. Graninger // *Am. J. Trop. Med. Hyg.* – 2003. – Vol. 69 (4). – P. 406-410.

307. Qadri, F. Enterotoxigenic *Escherichia coli* in developing countries: epidemiology, microbiology, clinical features, treatment, and prevention / F. Qadri, A-M. Svennrholm, ASG Faruque, R. B. Sack // *Clin Microbiol Rev.* – 2005. – Vol. 18 (3). – P. 465-483.

308. Raeisour, M. Antibiotic resistance, virulence factors and genotyping of uropathogenic *Escherichia coli* strains / M. Raeisour, R. Ranjbar // *Antimicrob Resist Infect Control.* – 2018. – Vol. 7. – Article 118.

309. Raimondi, S. Antibiotic resistance, virulence factors, phenotyping, and genotyping of *E. coli* isolated from the feces of healthy subjects / S. Raimondi, L. Righini, F. Candeliere, E. Musmeci, F. Bonvicini, G. Gentilomi, M. Starcic Erjavec, A. Amaretti, M. Rossi // *Microorganisms.* – 2019. – Vol. (7). – P. 251-263.

310. Ralphahrens, B. J. Structure of the capsular polysaccharide (K19 antigen) from uropathogenic *Escherichia coli* O25:K19:H12 / B. J. Ralphahrens, T. Dengler, K. Jann // *Carbohydr. Res.* – 1988. – Vol. 177. – P. 273 – 277.

311. Ranjbar, R. Enterobacterial Repetitive Intergenic Consensus Polymerase Chain Reaction (ERIC-PCR) genotyping of *Escherichia coli* strains isolated from different animal stool specimens / R. Ranjbar, A. Tabatabaee, P. Behzadi, R. Kheiri // *Iran J Pathol.* – 2017. – Vol. 12 (1). – P. 25-34.

312. Rasko, D. A. Origins of the *E. coli* strain causing an outbreak of hemolytic-uremic syndrome in Germany / D.A. Rasko, D.R. Webster, J.W. Sahl // *Engl J Med.* –

2011. – Vol. 365. – P. 709–717.

313. Regua-Mangia, A.H. Molecular typing and virulence of enteroaggregative *Escherichia coli* strains isolated from children with and without diarrhoea in Rio de Janeiro city, Brazil / A.H. Regua-Mangia, T.A. Gomes, M.A. Vieira, K. Irino, L.M. Teixeira // J. Med. Microbiol. – 2009. – Vol. 58. – P. 414–422.

314. Regua-Mangia, A.H. Molecular characterization of uropathogenic and diarrheagenic *Escherichia coli* pathotypes / A. H. Regua-Mangia, K. Irino, R. da Silva Pacheco, R.M. Pimentel Bezerra, A. R. Santos Perisse, L. M. Teixeira // J. Basic Microbiol. – 2010. – Vol. 50. – P. 107–115.

315. Rivas, M. Verocytotoxin-producing *Escherichia coli* infection in family members of children with hemolytic uremic syndrome / M. Rivas, L.E. Voyer, M. Tous, M.F. De Mena, N. Leardini, R. Wainsztein, R. Callejo, B. Quadri, S. Corti, V. Prado // Medicina (B Aires). – 1996. – Vol. 56 (2). – P.119–125.

316. Robins-Browne, R. M. Are *Escherichia coli* pathotypes still relevant in the era of Whole-Genome Sequencing? / R.M. Robins-Browne, K.E. Holt, D.J. Ingle, D.M. Hocking, J. Yang, M. Tauschek // Front Cell Infect Microbiol. – 2016. – Vol. (6). – Режим доступа: doi:10.3389/fcimb.2016.00141.

317. Rudd, K.E. Global, regional, and national sepsis incidence and mortality, 1990–2017: analysis for the Global Burden of Disease Study / K.E. Rudd, S.C. Johnson, K.M. Agesa, K.A. Shackelford, D. Tsoi, D.R. Kievlan, D.V. Colombara, K.S. Ikuta, N. Kissoon, S. Finfer, C. Fleischmann-Struzek, F.R. Machado, K.K. Reinhart, K. Rowan, C.W. Seymour, R.S. Watson, T.E. West, F. Marinho, S.I. Hay, R. Lozano, A.D. Lopez, D.C. Angus, C.J.L. Murray, M Naghavi // Lancet. – 2020. – Vol. 395 (10219). – P. 200–211.

318. Russo, T. Medical and economic impact of extraintestinal infections due to *Escherichia coli*: an over- looked epidemic / T. Russo, J. Johnson // Microbes and Infect. – 2003. – Vol. 5. – P. 449–456.

319. Sabaté, M. Pathogenicity island markers in commensal and uropathogenic *Escherichia coli* isolates / M. Sabaté, E. Moreno, T. Pérez, A. Andreu, G. Prats // Clin Microbiol Infect. – 2006. – Vol. 12. – P. 880–886.

320. Sánchez, S. Development of three multiplex PCR assays targeting the 21 most clinically relevant serogroups associated with shiga toxin-producing *E. coli* infection in humans / S. Sánchez, M.T. Llorente, M.A. Echeita, S. Herrera-León // PloS ONE. – 2015. – Vol. 10 (1). – Режим доступа: doi:10.1371/journal.pone.0117660.
321. Sanjar, F. Characterization of the pathogenome and phylogenomic classification of enteropathogenic *Escherichia coli* of the O157:non-H7 serotypes / F. Sanjar, B. Rusconi, T. H. Hazen, S. S. K. Koenig, M. K. Mammel, P. C. H. Feng, D. A. Rasko, M. Eppinger // Pathogens and Disease. – 2015. – Vol. 73 (5). – Режим доступа: doi:10.1093/femspd/ftv033.
322. Santos, A. C. M. Diversity of hybrid- and hetero-pathogenic *Escherichia coli* and their potential implication in more severe diseases / A.C.M. Santos, F.F. Santos, R.M. Silva, T.A.T. Gomes // Front Cell Infect Microbiol. – 2020. – Vol. 10. – Режим доступа: doi:10.3389/fcimb.2020.00339.
323. Sarowska, J. Virulence factors, prevalence and potential transmission of extraintestinal pathogenic *Escherichia coli* isolated from different sources: recent reports / J. Sarowska, B. Futoma-Koloch, A. Jama-Kmiecik, M. Frej-Madrzak, M. Ksiazczyk, G. Bugla-Ploskonska, I. Choroszy-Krol // Gut Pathog. – 2019. – Vol. 11. – Режим доступа: <https://doi.org/10.1186/s13099-019-0290-0>.
324. Scheutz, F. Multicenter evaluation of a sequence-based protocol for subtyping Shiga toxins and standardizing Stx nomenclature / F. Scheutz, L.D. Teel, L. Beutin // J Clin Microbiol. – 2012. – Vol. 50 (9). – P. 2951–2963.
325. Searle, L.J. Variation in siderophore biosynthetic gene distribution and production across environmental and faecal populations of *Escherichia coli* / L.J. Searle, G. Meric, I. Porcelli, S. K. Sheppard, S. Lucchini // PloS One. – 2015. – Vol. 10(3). – Режим доступа: doi:10.1371/journal.pone.0117906.
326. Sekse, C. Potentially human-pathogenic *Escherichia coli* O26 in Norwegian sheep flocks // C. Sekse, M. Sunde, B. A. Lindstedt, P. Hopp, T. Bruheim, K. S. Cudjoe, A. M. Urdahl // Appl Environ Microbiol. – 2011. – Vol. 77 (14). – P. 4949-4958.
327. Sepp, E. Phenotypic and molecular epidemiology of ESBL-, AmpC-, and carbapenemase-producing *Escherichia coli* Northern Europe / E. Sepp, R. Andreson, A.

- Balode, A. Bilozor, A. Brauer, S. Egorova, K. Huik, M. Ivanova, L. Kaftyreva, S. Koljalg, T. Koressaar, M. Makarova, J. Miciuleviciene, K. Pai, M. Remm, T. Roop, P. Naaber // *Front. Microbiol.* – 2019. [Электронный ресурс]: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02465>
328. Servin, A.L. Pathogenesis of Afa/Dr diffusely adhering *Escherichia coli* / A. L. Servin // *Clin. Microbiol. Rev.* – 2005. – Vol. 18 (2). – P. 264–292.
329. Servin, A.L. Pathogenesis of human diffusely adhering *Escherichia coli* expressing Afa/Dr adhesins (Afa/Dr DAEC): current insights and future challenges / A. L. Servin // *Clin. Microbiol. Rev.* – 2014. – Vol. 27(4). – P. 823-869.
330. Sethabutr, O. Detection of *Shigella* and enteroinvasive *Escherichia coli* by amplification of the invasion plasmid antigen H DNA sequence in patients with dysentery / O. Sethabutr, M. Venkatesan, G. S. Murphy, B. Eampokalap, C. W. Hoge, P. Echeverria // *J Infect. Dis.* – 1993. – Vol. 167 (2). – P. 458-46.
331. Sheikh, J. A novel dispersin protein in enteroaggregative *Escherichia coli* / J. Sheikh, J. R. Czeczulin, S. Harrington, S. Hicks, I. R. Henderson, C. Le Bouguénec, P. Gounon, A. Phillips, J. P. Nataro // *J. Clin. Invest.* – 2002. – Vol. 110. – P. 1329–1337.
332. Singh, N. S. Genetic environment of *bla*<sub>TEM-1</sub>, *bla*<sub>CTX-M-15</sub>, *bla*<sub>CMY-42</sub> and characterization of integrons of *Escherichia coli* isolated from an Indian urban aquatic environment / N.S. Singh, N. Singhal, J.S. Viridi // *Front Microbiol.* – 2018. – Vol. 7(9). – e:382.
333. Sjöling, A. Detection of major diarrheagenic bacterial pathogens by multiplex PCR panels / A. Sjöling, L. Sadeghipoorjahromi, D. Novak, J Tobias // *Microbiological Research.* – 2015. – Vol. 172. – P. 34–40.
334. Skjot-Rasmussen, L. Virulence factors and phylogenetic grouping of *Escherichia coli* isolated from patients with bacteraemia of urinary tract origin relate sex and hospital – vs. community-acquired origin / L. Skjot-Rasmussen, K. Ejrnaes, B. Lundgren, A. M. Hammerum, N. Frimodt-Moller // *International Journal of Medical Microbiology.* – 2012. – Vol. 32. – P. 129-134.
335. Sonnenborn, U. The non-pathogenic *Escherichia coli* strain Nissle 1917 – features of a versatile probiotic / U. Sonnenborn, J. Schulze // *Microbiol Ecology in*

Health and Disease. – 2009. – Vol. 21 (3). – P. 122-158.

336. Starcic Erjavec, M. Virulence potential for extraintestinal infections among commensal *Escherichia coli* isolated from healthy humans – the Trojan horse within our gut / M. Starcic Erjavec, D. Zgur-Bertok // FEMS Microbiology Letters. – 2015. – Vol. 362 (5). – Article.fnu061.

337. Stephan, R. First isolation and further characterization of enteropathogenic *Escherichia coli* (EPEC) O157:H45 strains from cattle / R. Stephan, N. Borel, C. Zweifel, M. Blanco, J. Blanco // BMC Microbiol. – 2004. – Vol. 4 (10). – Article 1471.

338. Stoppe, N. C. Worldwide phylogenetic group patterns of *Escherichia coli* from commensal human and wastewater treatment plant isolates / N. C. Stoppe, J. S. Silva, C. Carlos, M. I. Z. Sato, A. M. Saraiva, L. M. M. Ottoboni, T. T. Torres // Front. Microbiol. – 2017. – Vol. 8. – Article 2512.

339. Suzart, S. Diversity of surface structures and virulence genetic markers among enteroaggregative *Escherichia coli* (EAEC) strains with and without the EAEC DNA probe sequence / S. Suzart, B. E.C. Guth, M. Z. Pedroso, U. M. Okafor, T. A.T. Gomes // FEMS Microbiol. Let. – 2001. – Vol. 201. – P. 163 – 168.

340. Taghadosi, R. Serogroups, subtypes and virulence factors of shiga toxin-producing *Escherichia coli* isolated from human, calves and goats in Kerman, Iran / R. Taghadosi, M.R. Shakibaie, H. Alizade, H. Hosseini-Nave, A. Askari, R. Ghanbarpour // Gastroenterol Hepatol Bed Bench. – 2018. – Vol. 11 (1). – P. 60-67.

341. Tamura, K. Serotyping and uropathogenic of *Escherichia coli* strains isolated between 1958 and 1992 from diarrhoeal diseases in Asia / K. Tamura, R. Sakazaki, M. Murase, Y. Kosakot // J Med. Microbiol. – 1996. – Vol. 45. – P. 353 – 358.

342. Tenaillon, O. The population genetics of commensal *Escherichia coli* / O. Tenaillon, D. Skurnik, B. Picard, E. Denamur // Nature Rev. Microbiol. – 2010. – Vol. 8. – P. 207- 217.

343. Tokhi, A.M. A longitudinal study of Vero cytotoxin producing *Escherichia coli* in cattle calves in Sri Lanka / A.M. Tokhi, J.S.M. Peiris, S.M. Scotland, G.A. Willshaw // Epidemiol Infect. – 1993. – Vol. 10. – P. 197-208.

344. Tokuda, K. Characterization of typical and atypical enteroaggregative

- Escherichia coli* in Kagoshima, Japan: biofilm formation and acid resistance / K. Tokuda, J. Nishi, N. Imuta, R. Fujiyama, A. Kamenosono, K. Manago, Y. Kawano // Microbiol. Immunol. – 2010. – Vol. 54. – P. 320 – 329.
345. Torres, A.G. Adherence of diarrheagenic *Escherichia coli* strains to epithelial cells / A. G. Torres, X. Zhou, J.B. Kaper // Infect Immun. – 2005. – Vol. 73. – P. 18–29.
346. Trabulsi, L.R. Typical and atypical enteropathogenic *Escherichia coli* / L.R. Trabulsi, R. Keller, T.A. Taradelli Gomes // Emerg Infect Dis. – 2002. – Vol. 8 (5). – P. 509-513.
347. Turnbaugh, P.J. The human microbiome project / P.J. Turnbaugh, R.E. Ley, M. Hamady, C.M. Fraser-Liggett, R. Knight, J.I. Gordon // Nature. – 2007. – Vol. 449(7164). – P. 804-810.
348. Ud-Din, A. Relationship among *Shigella* spp. and enteroinvasive *Escherichia coli* (EIEC) and their differentiation / A. Ud-Din, S. Wahid // Braz J Microbiol. – 2014. – Vol. 45 (4). – P. 1131-1138.
349. UNICEF (The United Nations Children`s Fund/WHO (World Health Organization), 2009. Diarrhoea: Why children are still dying and what can be done. [Электронный ресурс]. – Режим доступа: [http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/44174/9789241598415\\_eng.pdf?sequence=1](http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/44174/9789241598415_eng.pdf?sequence=1)
350. Valilis, E. Non-O157 Shiga toxin-producing *Escherichia coli* – A poorly appreciated enteric pathogen: Systematic review / E. Valilis, A. Ramsey, S. Sidiq, H. L. DuPont // Int J Infect Dis. – 2018. – Vol. 76. – P. 82-87.
351. Van den Beld, M.J, Differentiation between *Shigella*, enteroinvasive *Escherichia coli* (EIEC) and noninvasive *Escherichia coli* / M.J. van den Beld, F.A. Reubsaet // Eur J Clin Microbiol Infect Dis. – 2012. – Vol. 31 (6). – P. 899-904.
352. Vaz, T. M. I. Virulence properties and characteristics of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in São Paulo, Brazil, from 1976 through 1999 / T.M. I. Vaz, K. Irino, M.A. M. F. Kato, A. M. G. Dias, T.A.T. Gomes, M.I. C. Medeiros, M.M.M. Rocha, B.E.C. Guth // Clin Microbiol. – 2004. – Vol. 42 (2). – P. 903-905.
353. Verstraete, K. Genetic characteristics of Shiga toxin-producing *E. coli* O157, O26, O103, O111, and O145 isolated from humans, food, and cattle in Belgium / K.



- Verstraete, K. De Reu, S. Van Weynberg, D. Pierard // *Epidemiol.Infect.* – 2013. – Vol. 141. – P. 2503-2515.
354. Vila, J. *Escherichia coli*: an old friend with new tidings / J. Vila, E. Sáez-López, J. R. Johnson, U. Römling, U. Dobrindt, R. Cantón, C. G. Giske, T. Naas, A. Carattoli, M. Martínez-Medina, J. Bosch, P. Retamar, J. Rodríguez-Baño, F. Baquero, S. M. Soto // *FEMS Microbiol Rev.* – 2016. – Vol. 40 (4). – P. 437-463.
355. Vogel, L. Epidemiologic typing of *Escherichia coli* using RAPD analysis, ribotyping and serotyping / L. Vogel, E. Oorchot, H.M. Maas, B. Minderhoud, L. Dijkshoorn // *Clin Microbiol Infect.* – 2000. – Vol. 6. – P. 82-87.
356. Wallace-Gadsden, F. Enteraggregative *Escherichia coli* related to uropathogenic clonal group A / F. Wallace-Gadsden, J.R. Johnson, J. Wain, I.N. Okeke // *Emerg Infect Dis.* – 2007. – Vol. 13. – P. 757–760.
357. Wang, H. Characteristics of the phagocytic cup induced uropathogenic *Escherichia coli* / H. Wang, F-X. Liang, X-P. Kong // *J. Histochem Cytochem.* – 2008. – Vol. 56 (6). – P. 597-604.
358. Wang, S. Antimicrobial resistance and molecular epidemiology of *Escherichia coli* causing bloodstream infections in three hospitals in Shanghai, China / S. Wang, S-Y. Zhao, S-Z. Xiao, F-F. Gu, Q-Z. Liu, J. Tang, X-K, Guo, Y-X. Ni, L-Z. Han // *PloS One.* – 2016. – Vol. 11 (1). – e0147740.
359. Wilson, A. Characterisation of strains of enteroaggregative *Escherichia coli* isolated during the infectious intestinal disease study in England / A. Wilson, J. Evans, H. Chart, T. Cheasty, J.G. Wheeler, D. Tompkins, H.R. Smith // *Eur. J. Epidemiol.* – 2001. – Vol. 17. – P. 1125–1130.
360. Wilson, L.A. Enterobacterial repetitive intergenic consensus (ERIC) sequences in *Escherichia coli*: evolution and implications for ERIC-PCR / L. A. Wilson, P. M. Sharp // *Mol. Biol. Evol.* – 2006. – Vol. 23 (6). – P. 1156–1168.
361. Wirth, T. Sex and virulence in *Escherichia coli*: an evolutionary perspective. Protocols used for MLST of *Escherichia coli* / T. Wirth, D. Falush, R. Lan, F. Colles, P. Mensa, L.H. Wieler, H. Karch, P. R. Reeves, M. C. Maiden, H. Ochman, M. Achtman // *Mol. Microbiol.* – 2006. – Vol. 60 (5). – P. 1136-1151.

362. Wolf, M.K. Occurrence, distribution, and associations of O and H serogroups, colonization factor antigens, and toxins of enterotoxigenic *Escherichia coli* / M.K. Wolf // Clin Microbiol Rev. – 1997. – Vol. 10 (4). – P. 569-584.
363. Woodford, N. Multiresistant Gram-negative bacteria: the role of high-risk clones in the dissemination of antibiotic resistance / N. Woodford, J.F. Turton, D.M. Livermore // FEMS Microbiol. Rev. – 2011. – Vol. 35. – P. 736-755.
364. World Gastroenterology Organization (WGO), 2012. Острая диарея у взрослых и детей: глобальная перспектива. [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://www.worldgastroenterology.org/UserFiles/file/guidelines/acute-diarrhea-russian-2012.pdf>
365. World Health Organization (WHO), 2003. Basic laboratory procedures in clinical bacteriology. [Электронный ресурс]. – Режим доступа: [https://www.who.int/medical\\_devices/publications/basic\\_lab\\_procedures\\_clinical\\_bact/en/](https://www.who.int/medical_devices/publications/basic_lab_procedures_clinical_bact/en/)
366. World Health Organization (WHO), 2013. Ending preventable child deaths from pneumonia and diarrhoea by 2025 The integrated Global Action Plan for Pneumonia and Diarrhoea (GAPPD). [Электронный ресурс]. – Режим доступа: [https://www.who.int/maternal\\_child\\_adolescent/documents/global\\_action\\_plan\\_pneumonia\\_diarrhoea/en/](https://www.who.int/maternal_child_adolescent/documents/global_action_plan_pneumonia_diarrhoea/en/)
367. WHO estimates of the global burden of foodborne diseases: foodborne diseases burden epidemiology reference group 2007-2015: World Health Organization, 2015. [Электронный ресурс]. – Режим доступа [https://www.who.int/foodsafety/areas\\_work/foodborne-diseases/ferg/ru/](https://www.who.int/foodsafety/areas_work/foodborne-diseases/ferg/ru/)
368. World Health Organization (WHO) and Food Agriculture Organization of the United Nations (FAO), 2018. Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) and food: attribution, characterization, and monitoring: report. World Health Organization. [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/272871>
369. Xu, W.Y. Different loci and mRNA copy number of the increased serum survival gene of *Escherichia coli* / W.Y. Xu, Y.J. Li, C. Fan // Can J Microbiol. – 2018. – Vol. 64(2). – P. 147-154.
370. Xu, Y. High prevalence of virulence genes in specific genotypes of atypical

enteropathogenic *Escherichia coli* / Y. Xu, X. Bai, B. Hu, H. Wang, H. Sun, R. Fan, S. Fu, Y. Xiong // Front Cell Infect Microbiol. – 2017. – Vol. 7. – Article 109.

371. Yatsuyanagi, J. Characterization of enteropathogenic and enteroaggregative *Escherichia coli* isolated from diarrheal outbreaks/ J. Yatsuyanagi, S. Saito, H. Sato, Y. Miyajima, K-I. Amano, K. Enomoto // J Clin. Microbiol. – 2002. – Vol. 40 (1). – P. 294–297.

372. Zhu, Y. Characterization and virulence clustering analysis of extraintestinal pathogenic *Escherichia coli* isolated from swine in China / Y. Zhu, W. Dong, J. Ma, L. Yuan, H.M.A. Hejair, Z. Pan, G. Liu, Y. Huochun // BMC Veterinary Research. – 2017. – Vol. 13. – Режим доступа: doi:10.1186/s12917-017-0975-x.

## ПРИЛОЖЕНИЕ 1

Нуклеотидная последовательность праймеров для детекции генов диареегенных *E. coli* (DEC)

| Ген         | Нуклеотидная последовательность праймера      | Размер<br>ПЦР<br>продукта | Ссылка        |
|-------------|-----------------------------------------------|---------------------------|---------------|
| EPEC        |                                               |                           |               |
| <i>bfp</i>  | F-GATTGAATCTGCAATGGC                          | 597 bp                    | [185]         |
|             | R- GGATTACTGTCCTCACATATA                      |                           |               |
| <i>eae</i>  | F-CATTATGGAACGGCAGAGGT                        | 790 bp                    | [108]         |
|             | R- ATCTTCTGCGTACTGCGTTCA                      |                           |               |
| <i>eaf</i>  | F-CAGGGTAAAAGAAAGATGATAA                      | 397 bp                    | [108]         |
|             | R-TATGGGGACCATGTATTATCA                       |                           |               |
| EAgEC       |                                               |                           |               |
| <i>aggR</i> | F-CAGAATACATCAGTACACTG                        | 433 bp                    | [344]         |
|             | R-GAAGCTTACAGCCGATATAT                        |                           |               |
| <i>aafA</i> | F-TGCGATTGCTACTTTATTAT                        | 242 bp                    | [344]         |
|             | R-ATTGACCGTGATTGGCTTCC                        |                           |               |
| <i>aap</i>  | F-TGAAAAAAATTAAGTTTGTTATC                     | 344 bp                    | [344]         |
|             | R-AACCCATTTCGGTTAGAGC                         |                           |               |
| <i>aatA</i> | F-ATGTTACCAGATATAAATATAG                      | 1065 bp                   | [344]         |
|             | R-CATTTCCCCTGTATTGGAAATG                      |                           |               |
| <i>pet</i>  | F-ACTGGCGGACTCATTGCTGT                        | 832 bp                    | [344]         |
|             | R-GCGTTTTTCCGTTCCCTATT                        |                           |               |
| <i>astA</i> | F-GCCATCAACACAGTATATCC                        | 106 bp                    | [344]         |
|             | R-GAGTGACGGCTTTGTAGTCC                        |                           |               |
| <i>aaiA</i> | F-AACCGGAGATGCTGAAACTGCG                      | 158 bp                    | [344]         |
|             | R-GGATTGCCATTAGTAGTCACCAG                     |                           |               |
| STEC/EHEC   |                                               |                           |               |
| <i>stx1</i> | F-CAGTTAATGTCGTGGCGAAGG                       | 348 bp                    | [175]         |
|             | R-CACCAGACAATGTAACCGCTG                       |                           |               |
| <i>stx2</i> | F-ATCCTATTCCCGGGAGTTTACG                      | 584 bp                    | [175]         |
|             | R-GCGTCATCGTATACACAGGAGC                      |                           |               |
| <i>ehxA</i> | F-CACACGGAGCTTATAATATTCTGTCA                  | 321 bp                    | [175]         |
|             | R-AATGTTATCCCATTTGACATCATTTGACT               |                           |               |
| <i>saa</i>  | F-CGTGATGAACAGGCTATTGC                        | 119 bp                    | [175,<br>103] |
|             | R-ATGGACATGCCTGTGGCAAC                        |                           |               |
| EIEC        |                                               |                           |               |
| <i>ipaH</i> | F-GTTCCTTGACCGCCTTTCGATACCG                   | 610 bp                    | [234]         |
|             | R-GCCGGTCAGCCACCCTCTGAGAGTA                   |                           |               |
| <i>ial</i>  | F-CTGGATGGTATGGTGAGG                          | 320 bp                    | [233]         |
|             | R-CCAGGCCAACAATTATTTCC                        |                           |               |
| <i>invE</i> | F-CGATAGATGGCGAGAAATTATATCCCG                 | 766 bp                    | [273]         |
|             | R-CGATCAAGAATCCCTAACAGAAGAATCAC               |                           |               |
| ETEC        |                                               |                           |               |
| <i>est</i>  | F- TTCACCTTTCCCTCAGGATG                       | 120 bp                    | [333]         |
|             | R- CTATTCATGCTTTCAGGACCA                      |                           |               |
| <i>elt</i>  | F- ACGGCGTTACTATCCTCTC                        | 273 bp                    | [333]         |
|             | R- TGGTCTCGGTCAGATATGTG                       |                           |               |
| <i>cfa</i>  | F -TAATACGACTCACTATAGGG                       | 986 bp                    | [333]         |
|             | R -ACCAAAGGCTCCCAAAGTCATTACAAGAGATACTACTCCTGA |                           |               |

## ПРИЛОЖЕНИЕ 2

Нуклеотидная последовательность праймеров для детекции генов экстраинтестинальных *E. coli*  
(ExPEC)

| Ген                         | Нуклеотидная последовательность праймера | Размер ПЦР продукта | Ссылка |
|-----------------------------|------------------------------------------|---------------------|--------|
| <i>pap</i>                  | F–GACGGCTGTACTGCAGGGTGTGGCG              | 328 bp              | [103]  |
|                             | R–ATATCCTTTCTGCAGGGATGCAATA              |                     |        |
| <i>sfa</i>                  | F–CTCCGGAGAACTGGGTGCATCTTAC              | 410 bp              | [103]  |
|                             | R–CGGAGGAGTAATTACAAACCTGGCA              |                     |        |
| <i>afa</i>                  | F–GCTGGGCAGCAAACCTGATAACTCTC             | 750 bp              | [103]  |
|                             | R–CATCAAGCTGTTTGTTCGTCCGCCG              |                     |        |
| <i>fimH</i>                 | F–TGCAGAACGGATAAGCCGTGG                  | 508 bp              | [372]  |
|                             | R–GCAGTCACCTGCCCTCCGGTA                  |                     |        |
| <i>iutA</i>                 | F–ATCGGCTGGACATCATGGGAAC                 | 314 pb              | [372]  |
|                             | R–CGCATTTACCGTCGGGAACGG                  |                     |        |
| <i>fyuA</i>                 | F–TGATTAACCCCGCGACGGGAA                  | 277 bp              | [219]  |
|                             | R–CGCAGTAGGCACGATGTTGTA                  |                     |        |
| <i>hlyA</i>                 | F–AACAAGGATAAGCACTGTTCTGGCT              | 1177bp              | [286]  |
|                             | R–ACCATATAAGCGGTCATTCCCGTCA              |                     |        |
| <i>cnf</i>                  | F–AAGATGGAGTTTCCTATGCAGGAG               | 446 bp              | [372]  |
|                             | R–CATTCAGAGTCCTGCCCTCATTATT              |                     |        |
| <i>cdtB</i>                 | F–AAATCACCAAGAATCATCCAGTTA               | 430                 | [285]  |
|                             | R–AAATCTCCTGCAATCATCCAGTTA               |                     |        |
| <i>cvaC</i>                 | TCCAAGCGGACCCCTTATAG                     | 679                 | [219]  |
|                             | CGCAGCATAGTTCCATGCT                      |                     |        |
| <i>kpsII</i>                | F – GCGCATTTGCTGATACTGTTG                | 272 bp              | [372]  |
|                             | R – CATCCAGACGATAAGCATGAGCA              |                     |        |
| <i>kpsIII</i>               | F–TCCTCTTGCTACTATTCCCCCT                 | 392 bp              | [372]  |
|                             | R – AGGCGTATCCATCCCTCCTAAC               |                     |        |
| K1                          | F – CTACCCCTTTTGACGAAGAC                 | 493 bp              | [333]  |
|                             | R–ACACACCTGACCCCAATAC                    |                     |        |
| K5                          | F – GCCACCAACTGTCGCAAAA                  | 809 bp              | [333]  |
|                             | R–TGTCGCCCAAACAAAAAGATT                  |                     |        |
| <i>ibe</i>                  | F – AGGCAGGTGTGCGCCGCGTAC                | 254                 | [372]  |
|                             | R – TGGTGCTCCGGCAAACCATGC                |                     |        |
| TraT                        | F – GTGGTGCGATGAGCACAG                   | 430                 | [173]  |
|                             | R – TAGTTCACATCTTCCACCATCG               |                     |        |
| PAI<br>II <sub>CFT073</sub> | F – GGACATCCTGTTACAGCGCGCA               | 921                 | [319]  |
|                             | R – TCGCCACCAATCACAGCCGAAC               |                     |        |

## ПРИЛОЖЕНИЕ 3

Нуклеотидная последовательность праймеров для детекции генов, кодирующих продукцию  
β-лактамаз расширенного спектра и карбапенемаз

| Мишень                           | Нуклеотидная последовательность праймера | Размер<br>ПЦР<br>продукта | Ссылка |
|----------------------------------|------------------------------------------|---------------------------|--------|
| β-лактамазы расширенного спектра |                                          |                           |        |
| AmpC                             | F – AATGGGTTTTCTACGGTCTG                 | 191 bp                    | [363]  |
|                                  | R – GGGCAGCAAATGTGGAGCAA                 |                           |        |
| TEM                              | F – AAACGCTGGTGAAAGTA                    | 774 bp                    | [63]   |
|                                  | R – TAATCAGTGAGGCACCTATCTC               |                           |        |
| SHV                              | F – TTATCTCCCTGTTAGCCACC                 | 731 bp                    | [63]   |
|                                  | R – TGCTTTGTTATTCGGGCCAA                 |                           |        |
| CTX-M                            | F – ATGTGCAGTACCAGTAAGGTGATGGC           | 538 bp                    | [63]   |
|                                  | R – GCGATATCGTTGGTGGTGCC                 |                           |        |
| CTX-M1 group                     | F – AAATCACTGCGTCAGTTCACGC               | 864 bp                    | [63]   |
|                                  | R – CAAACCGTTGGTGACGAT                   |                           |        |
| CTX-M2 group                     | F – ATGATGACTCAGAGCATTCG                 | 869 pb                    | [63]   |
|                                  | R – CCGTGGGTTACGATTTTCGC                 |                           |        |
| CTX-M8 group                     | F – ATGATGAGACATCGCGTTAA                 | 870 pb                    | [63]   |
|                                  | R – TCCGTCGGTGACGATTTTCGCG               |                           |        |
| CTX-M9group                      | F – ATGGTGACAAAGAGAGTGC                  | 869bp                     | [63]   |
|                                  | R – CCTTCGGCGATGATTCTCGC                 |                           |        |
| CTX-M25group                     | F – ATGATGAGAAAAAGCGTAAG                 | 869 bp                    | [63]   |
|                                  | R – CCGTCGGTGACAATTCTGGC                 |                           |        |
| CTX-M15                          | F – CCGTTTCCGCTATTACAAAC                 | 1050                      | [332]  |
|                                  | R – CTGGGACCTACGTGCGCCCG                 |                           |        |
| карбапенемазы                    |                                          |                           |        |
| VIM                              | F – ATGTTCAAACCTTTTGAGTAAG               | 781                       | [63]   |
|                                  | R – CTACTCAACGACTGAGCG                   |                           |        |
| IMP                              | F – ACCGCAGCAGAGTCTTTGCC                 | 566 bp                    | [63]   |
|                                  | R – ACAACCAGTTTTGCCTTACC                 |                           |        |
| NDM                              | F – GGTTTGGCGATCTGGTTTTTC                | 392 bp                    | [63]   |
|                                  | R – CGGAATGGCTCATCACGATC                 |                           |        |

## ПРИЛОЖЕНИЕ 4

Нуклеотидная последовательность праймеров, использованных в ПЦР, для субтипирования *stx* генов STEC/ EHEC [209]

| Ген           | Нуклеотидная последовательность праймера | Размер ПЦР продукта |
|---------------|------------------------------------------|---------------------|
| <i>stx1a</i>  | F-CCTTTCCAGGTACAACAGCGGTT                | 478 bp              |
|               | R-GGAAACTCATCAGATGCCATTCTGG              |                     |
| <i>stx1c</i>  | F-CCTTTCCTGGTACAACCTGCGGTT               | 252 bp              |
|               | R-CAAGTGTTGTACGAAATCCCCTCTGA             |                     |
| <i>stx1d</i>  | F-CAGTTAATGCGATTGCTAAGGAGTTTACC          | 203 bp              |
|               | R-CTCTTCCTCTGGTTCTAACCCCATGATA           |                     |
| <i>stx2a</i>  | F-GCGATACTGRGGACTGTGGCC                  | 349 bp<br>347 bp    |
|               | R1-CCGKCAACCTTCACTGTAAATGTG              |                     |
|               | R2-GGCCACCTTCACTGTGAATGTG                |                     |
| <i>stx2b</i>  | F-AAATATGAAGAAGATATTTGTAGCGGC            | 251 bp              |
|               | R-CAGCAAATCCTGAACCTGACG                  |                     |
| <i>stx 2c</i> | F-GAAAGTCACAGTTTTTATATACAACGGGTA         | 177 bp              |
|               | R-CCGGCCACYTTTACTGTGAATGTA               |                     |
| <i>stx2d</i>  | F-AAARTCACAGTCTTTATATACAACGGGTG          | 179 bp<br>280 bp    |
|               | R1- TTYCCGGCCACTTTTACTGTG                |                     |
|               | R2-GCCTGATGCACAGGTACTGGAC                |                     |
| <i>stx2e</i>  | F-CGGAGTATCGGGGAGAGGC                    | 411 bp              |
|               | R-CTTCCTGACACCTTCACAGTAAAGGT             |                     |
| <i>stx2f</i>  | F-TGGGCGTCATTCAGTGGTTG                   | 424 bp              |
|               | R-TAATGGCCGCCCTGTCTCC                    |                     |
| <i>stx2g</i>  | F-CACCGGGTAGTTATATTTCTGTGGATATC          | 573 bp              |
|               | R-GATGGCAATTCAGAATAACCGCT                |                     |

## ПРИЛОЖЕНИЕ 5

Нуклеотидная последовательность праймеров, использованных в ПЦР для детекции генов, кодирующих О – антигены

| Мишень  | Нуклеотидная последовательность праймера | Размер ПЦР продукта | Ссылка |
|---------|------------------------------------------|---------------------|--------|
| gndbis. | F- ATACCGACGACGCCGATCTG                  | 584 pb              | [244]  |
| rfbO6   | R - AAATGAGCGCCCACCATTAC                 |                     |        |
| rfbO25  | R - GAGATCCAAAAACAGTTTGTG                | 313 pb              | [244]  |
| O26     | F -AAATTAAGAAGCGCGTTCATC                 | 596pb               | [163]  |
|         | R- CCCAGCAAGCCAATTATGACT                 |                     |        |
| O29     | F - TGCTCCCTGCTGGTGGTTATA                | 269 pb              | [208]  |
|         | R - TACGTCAAGCCTGGTGCTAAT                |                     |        |
| O55     | F - ATCGCAATTGCAATAAACTC                 | 144pb               | [320]  |
|         | R - CCCAACTCTAGTAGATAAAAGCC              |                     |        |
| O111    | F - AGAGAAATTATCAAGTTAGTTCC              | 406pb               | [164]  |
|         | R - ATAGTTATGAACATCTTGTTTAGC             |                     |        |
| O114    | F - CAGGTTTAAGTTGGGTA                    | 603 pb              | [158]  |
|         | R - AAGAAGAAAGTCTGGGTA                   |                     |        |
| O119    | F - GTTAACAATCAGCTCGATAAAC               | 650 pb              | [158]  |
|         | R - TTTGCAAGTAAACACCCTAAAC               |                     |        |
| O124    | F - AGTCACCGCGATGAATGATT                 | 270 pb              | [208]  |
|         | R - GCATTAAGTGGCGTCTGAATT                |                     |        |
| O125    | F - TGAATGCTTTGGGCGAAAGT                 | 210 pb              | [208]  |
|         | R - CTCGTCTTGAACCTACCAGCA                |                     |        |
| O126    | F - CGCATTAATGGACCTGATAAAGCATCG          | 465 pb              | [158]  |
|         | R - ACTAGCGCACATATCGTTAGCACG             |                     |        |
| O127    | F - TTCATCTCCGCTGGGAATACA                | 451 pb              | [208]  |
|         | R - AATTGGTGACGCTGGAATGA                 |                     |        |
| O128    | F - TTTGATCGTCTTGTTTCAGG                 | 193 pb              | [320]  |
|         | R - CAATGGGCAATTAACACAGAG                |                     |        |
| O142    | F- TCTCCATCCCCGTTTATTTG                  | 285 pb              | [249]  |
|         | R- CCCCAAACATTAGCATTCGT                  |                     |        |
| O144    | F - CGATGCAGATTAATTCAGCCT                | 406 pb              | [208]  |
|         | R - AACTGTGGCTCATGCCAATA                 |                     |        |
| O145    | F- TTGAGCACTTATCACAAGAGATT               | 418pb               | [320]  |
|         | R - GATTGAATAGCTGAAGTCATACTAAC           |                     |        |
| O152    | F - AGGCGCTGATTACTTCCGATA                | 568 pb              | [208]  |
|         | R - ACCTACCCCACTTCCGATTTT                |                     |        |
| O157    | F - CTCAATTTATAAAAAAGACGCTC              | 111 pb              | [320]  |
|         | R - TCCAAATATTAACGACTTCACTAC             |                     |        |
| O164    | F - AGTCACCGCGATGAATGATT                 | 270 pb              | [208]  |
|         | R - GCATTAAGTGGCGTCTGAAAT                |                     |        |



## ПРИЛОЖЕНИЕ 6

Нуклеотидная последовательность праймеров, использованных в ПЦР для детекции генов, кодирующих Н – антигены

| Мишень | Нуклеотидная последовательность праймера | Размер ПЦР продукта | Ссылка |
|--------|------------------------------------------|---------------------|--------|
| H2     | F - TGATCCGACATCTCCTGATG                 | 228 pb              | [114]  |
|        | R - CCGTCATCACCAATCAACGC                 |                     |        |
| H4     | F - GATTTTCAGCGCGGCGAAACT                | 150 pb              | [114]  |
|        | R - GGTTCGAGAATCAACGACCG                 |                     |        |
| H5     | F - CGCGTCGATTAATCATACAG                 | 225 pb              | [114]  |
|        | R - GTTGCTTTTGCCGCAGTATT                 |                     |        |
| H6     | F - TGCTGGCGCAGATGGAAATA                 | 624 pb              | [114]  |
|        | R - GCCGCATCCTCAGTAGTTGT                 |                     |        |
| H7     | F - CCCTTCATGCTGATGTGGGT                 | 548 pb              | [114]  |
|        | R - ATACCCGGCAACAGTCACAG                 |                     |        |
| H8F    | F - AGTGACCTGATTTCTAAA                   | 238pb               | [163]  |
|        | R - TTCAATGGAGCCTTTGTC                   |                     |        |
| H11F   | F - ACTGTTAACGTAGATAGC                   | 224pb               | [164]  |
|        | R - TCAATTTTCTGCAGAATATAC                |                     |        |
| H21    | F - GCAACTAAGCTTGCAGTGGC                 | 304 pb              | [114]  |
|        | R - TCTTGGCAGCGTTCAGATCA                 |                     |        |
| H28    | F - CTGGCATAACAACAGGCACAC                | 285 pb              | [114]  |
|        | R - TCAGCTTTGGTGTAAGCGTC                 |                     |        |
| H34    | F - GGGAAAACGACAGCTGCATC                 | 439 pb              | [114]  |
|        | R - CGGCTTGCGAGTAGTAGGTT                 |                     |        |
| H40    | F - GGTGCAGTCAAGGATAAAGA                 | 202 pb              | [114]  |
|        | R - CATCAAATGCAGTACCACTC                 |                     |        |
| H42    | F - CTGCTTTGGGGCAAAAGGTT                 | 269 pb              | [114]  |
|        | R - CTTACCCTGAACGGTAGCGA                 |                     |        |
| H45    | F - GCAACGGGAACAGGTCCTTA                 | 749 pb              | [114]  |
|        | R - CCTGCGCCATTTGAAGCTAC                 |                     |        |

## ПРИЛОЖЕНИЕ 7

Генотипы вирулентности штаммов *E. coli*, выделенных из крови

| Спектр генов вирулентности                                                                       | Количество |           |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|-----------|
|                                                                                                  | штаммов    | генотипов |
| <b>1-2 гена вирулентности</b>                                                                    | -          | -         |
| <b>3 гена вирулентности</b>                                                                      | -          | -         |
| <b>4 гена вирулентности</b>                                                                      | 1          | 1         |
| <i>fimH</i> + <i>fyuA</i> + <i>traT</i> + <i>PAI</i>                                             | 1          |           |
| <b>5 генов вирулентности</b>                                                                     | -          | -         |
| <b>6 генов вирулентности</b>                                                                     | 2          | 1         |
| <i>fimH</i> + <i>kpsMTII</i> + <i>fyuA</i> + <i>iutA</i> + <i>traT</i> + <i>PAI</i>              | 2          |           |
| <b>7 генов вирулентности</b>                                                                     | 2          | 2         |
| <i>fimH</i> + <i>pap</i> + <i>cnf</i> + <i>fyuA</i> + <i>iutA</i> + <i>traT</i> + <i>PAI</i>     | 1          |           |
| <i>fimH</i> + <i>pap</i> + <i>kpsMTII</i> + <i>fyuA</i> + <i>iutA</i> + <i>traT</i> + <i>PAI</i> | 1          |           |
| <b>Всего</b>                                                                                     | 5          | 4         |

## ПРИЛОЖЕНИЕ 8

Генотипы вирулентности штаммов *E. coli*, выделенных из мокроты

| Спектр генов вирулентности                                                                                     | Количество |           |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|-----------|
|                                                                                                                | штаммов    | генотипов |
| <b>1-2 гена вирулентности</b>                                                                                  | -          | -         |
| <b>3 гена вирулентности</b>                                                                                    | -          | -         |
| <b>4 гена вирулентности</b>                                                                                    | 1          | 1         |
| <i>fimH</i> + <i>fyuA</i> + <i>iutA</i> + <i>PAI</i>                                                           | 1          |           |
| <b>5 генов вирулентности</b>                                                                                   | 2          | 2         |
| <i>fimH</i> + <i>pap</i> + <i>hlyA</i> + <i>kpsMTII</i> + <i>traT</i>                                          | 1          |           |
| <i>fimH</i> + <i>fyuA</i> + <i>iutA</i> + <i>traT</i> + <i>PAI</i>                                             | 1          |           |
| <b>6 генов вирулентности</b>                                                                                   | 5          | 4         |
| <i>fimH</i> + <i>kpsMTIII</i> + <i>fyuA</i> + <i>iutA</i> + <i>cvaC</i> + <i>traT</i>                          | 1          |           |
| <i>fimH</i> + <i>pap</i> + <i>hlyA</i> + <i>fyuA</i> + <i>iutA</i> + <i>traT</i>                               | 2          |           |
| <i>fimH</i> + <i>kpsMTIII</i> + <i>fyuA</i> + <i>iutA</i> + <i>traT</i> + <i>PAI</i>                           | 1          |           |
| <i>fimH</i> + <i>pap</i> + <i>kpsMTII</i> + <i>fyuA</i> + <i>iutA</i> + <i>traT</i>                            | 1          |           |
| <b>7 генов вирулентности</b>                                                                                   | 2          | 2         |
| <i>fimH</i> + <i>afa</i> + <i>pap</i> + <i>fyuA</i> + <i>iutA</i> + <i>traT</i> + <i>PAI</i>                   | 1          |           |
| <i>fimH</i> + <i>pap</i> + <i>hly</i> + <i>cnf</i> + <i>fyuA</i> + <i>iutA</i> + <i>traT</i>                   | 1          |           |
| <b>8 генов вирулентности</b>                                                                                   | 2          | 2         |
| <i>fimH</i> + <i>pap</i> + <i>cnf</i> + <i>kpsMTIII</i> + <i>fyuA</i> + <i>iutA</i> + <i>traT</i> + <i>PAI</i> | 1          |           |
| <i>fimH</i> + <i>afa</i> + <i>cnf</i> + <i>kpsMTII</i> + <i>fyuA</i> + <i>iutA</i> + <i>traT</i> + <i>PAI</i>  | 1          |           |
| <b>Всего</b>                                                                                                   | 12         | 11        |

## ПРИЛОЖЕНИЕ 9

Генотипы вирулентности штаммов *E. coli*, выделенных при инфекциях в области хирургического вмешательства

| Спектр генов вирулентности                  | Количество |           |
|---------------------------------------------|------------|-----------|
|                                             | штаммов    | генотипов |
| <b>1-2 гена вирулентности</b>               | 1          | 1         |
| <i>fimH</i>                                 | 1          |           |
| <b>3 гена вирулентности</b>                 | 1          | 1         |
| <i>fimH+cnf+fyuA</i>                        | 1          |           |
| <b>4 гена вирулентности</b>                 | 5          | 5         |
| <i>fimH+pap+fyuA+iutA</i>                   | 1          |           |
| <i>fimH+kpsMTIII+iutA+traT</i>              | 1          |           |
| <i>kpsMTIII+fyuA+iutA+traT</i>              | 1          |           |
| <i>fimH+pap+fyuA+traT</i>                   | 1          |           |
| <i>fimH+iutA+traT+PAI</i>                   | 1          |           |
| <b>5 генов вирулентности</b>                | 5          | 4         |
| <i>fimH+kpsMTIII+iutA+cvaC+traT</i>         | 1          |           |
| <i>fimH+fyuA+iutA+traT+PAI</i>              | 2          |           |
| <i>fimH+kpsMTII+fyuA+iutA+traT</i>          | 1          |           |
| <i>fimH+pap+fyuA+iutA+traT</i>              | 1          |           |
| <b>6 генов вирулентности</b>                | 6          | 4         |
| <i>fimH+pap+hlyA+fyuA+iutA+traT</i>         | 2          |           |
| <i>fimH+kpsMTIII+fyuA+iutA+traT+PAI</i>     | 2          |           |
| <i>fimH+kpsMTII+fyuA+iutA+traT+PAI</i>      | 1          |           |
| <i>fimH+cnf+kpsMTII+fyuA+iutA+traT</i>      | 1          |           |
| <i>fimH+cvaC+fyuA+iutA+traT+PAI</i>         | 1          |           |
| <b>7 генов вирулентности</b>                | 6          | 5         |
| <i>fimH+pap+hlyA+fyuA+iutA+traT+PAI</i>     | 1          |           |
| <i>fimH+cnf+kpsMTII+fyuA+iutA+traT+PAI</i>  | 1          |           |
| <i>fimH+cnf+kpsMTIII+fyuA+iutA+traT+PAI</i> | 2          |           |
| <i>fimH+pap+kpsMTIII+fyuA+iutA+traT+PAI</i> | 1          |           |
| <i>fimH+sfa+cnf+kpsMTIII+fyuA+iutA+focG</i> | 1          |           |
| <b>8 генов вирулентности</b>                | 1          | 1         |
| <i>fimH+afa+pap+hlyA+cnf+fyuA+iutA+traT</i> | 1          |           |
| <b>Всего</b>                                | 25         | 25        |

## ПРИЛОЖЕНИЕ 10

Генотипы вирулентности штаммов *E. coli*, выделенных из мочи,  
госпитализированных пациентов

| Спектр генов вирулентности              | Количество |           |
|-----------------------------------------|------------|-----------|
|                                         | штаммов    | генотипов |
| <b>1-2 гена вирулентности</b>           | -          | -         |
| <b>3 гена вирулентности</b>             | 1          | 3         |
| <i>fimH+afa+iutA</i>                    | 1          |           |
| <i>fimH+pap+cnf</i>                     | 1          |           |
| <i>fimH+fyuA+kpsMTIII</i>               | 1          |           |
| <b>4 гена вирулентности</b>             | 12         | 11        |
| <i>cnf+fyuA+iutA+kpsMTIII</i>           | 1          |           |
| <i>fimH+fyuA+kpsMTIII+traT</i>          | 2          |           |
| <i>fimH+iutA+kpsMTIII+traT</i>          | 1          |           |
| <i>pap+fyuA+iutA+traT</i>               | 1          |           |
| <i>fimH+cvaC+fyuA+traT</i>              | 1          |           |
| <i>fimH+cnf+iutA+traT</i>               | 1          |           |
| <i>fimH+fyuA+iutA+PAI</i>               | 1          |           |
| <i>fimH+ibe+fyuA+KpsMTII</i>            | 1          |           |
| <i>fimH+iutA+kpsMTII+traT</i>           | 1          |           |
| <i>fimH+cvaC+iutA+traT</i>              | 1          |           |
| <i>fimH+kpsMTII+traT+PAI</i>            | 1          |           |
| <b>5 генов вирулентности</b>            | 17         | 12        |
| <i>fimH+fyuA+kpsMTII+traT+PAI</i>       | 1          |           |
| <i>fimH+fyuA+iutA+kpsMTIII+traT</i>     | 2          |           |
| <i>fimH+sfa+fyuA+iutA+traT</i>          | 1          |           |
| <i>fimH+fyuA+iutA+traT+PAI</i>          | 2          |           |
| <i>fimH+cnf+iutA+kpsMTIII+traT</i>      | 1          |           |
| <i>fimH+pap+fyuA+iutA+traT</i>          | 2          |           |
| <i>fimH+cvaC+fyuA+iutA+traT</i>         | 1          |           |
| <i>fimH+fyuA+iutA+kpsMTIII+PAI</i>      | 1          |           |
| <i>fimH+fyuA+iutA+kpsMTII+traT</i>      | 3          |           |
| <i>fimH+afa+ibeA+fyuA+kpsMTII</i>       | 1          |           |
| <i>fyuH+iutA+kpsMTII+traT+PAI</i>       | 1          |           |
| <i>fimH+pap+hlyA+kpsMTII+traT</i>       | 1          |           |
| <b>6 генов вирулентности</b>            | 41         | 16        |
| <i>fimH+pap+fyuA+iutA+kpsMTIII+traT</i> | 2          |           |
| <i>fimH+hlyA+fyuA+iutA+kpsMTII+traT</i> | 1          |           |
| <i>afa+fyuA+iutA+kpsMTIII+traT+PAI</i>  | 1          |           |
| <i>fimH+pap+hlyA+fyuA+iutA+traT</i>     | 11         |           |
| <i>fimH+fyuA+iutA+kpsMTIII+traT+PAI</i> | 6          |           |
| <i>fimH+cnf+fyuA+iutA+traT+PAI</i>      | 1          |           |
| <i>afa+cnf+fyuA+iutA+kpsMTIII+traT</i>  | 1          |           |
| <i>fimH+cvaC+fyuA+iutA+kpsMTII+traT</i> | 1          |           |
| <i>fimH+fyuA+iutA+kpsMTII+traT+PAI</i>  | 9          |           |
| <i>fimH+sfa+pap+fyuA+kpsMTII+traT</i>   | 1          |           |
| <i>fimH+cnf+fyuA+iutA+kpsMTIII+traT</i> | 1          |           |
| <i>fimH+afa+fyuA+kpsMTIII+traT+PAI</i>  | 1          |           |
| <i>fimH+pap+fyuA+iutA+kpsMTII+traT</i>  | 1          |           |

## Продолжение приложения 10

|                                                       |    |    |
|-------------------------------------------------------|----|----|
| <i>fimH+cvaC+fyuA+iutA+kpsMTII+PAI</i>                | 1  |    |
| <i>fimH+afa+pap+hlyA+fyuA+iutA</i>                    | 1  |    |
| <i>fimH+cnf+fyuA+iutA+kpsMTIII+PAI</i>                | 2  |    |
| <b>7 генов вирулентности</b>                          | 14 | 8  |
| <i>fimH+afa+fyuA+iutA+kpsMTIII+traT+PAI</i>           | 1  |    |
| <i>afa+cnf+fyuA+iutA+kpsMTIII+traT+PAI</i>            | 1  |    |
| <i>fimH+afa+cnf+fyuA+kpsMTIII+traT+PAI</i>            | 1  |    |
| <i>fimH+pap+fyuA+iutA+kpsMTIII+traT+PAI</i>           | 1  |    |
| <i>fimH+pap+hlyA+fyuA+iutA+traT+PAI</i>               | 5  |    |
| <i>fimH+pap+cnf+hlyA+fyuA+iutA+traT</i>               | 2  |    |
| <i>fimH+pap+cnf+hlyA+fyuA+kpsMTIII+traT</i>           | 1  |    |
| <i>fimH+cnf+fyuA+iutA+kpsMTII+traT+PAI</i>            | 2  |    |
| <b>8 генов вирулентности</b>                          | 2  | 2  |
| <i>fimH+afa+pap+fyuA+iutA+kpsMTII+traT+PAI</i>        | 1  |    |
| <i>fimH+ibeA+cnf+cvaC+fyuA+iutA+kpsMTII+traT</i>      | 1  |    |
| <b>9 генов вирулентности</b>                          | 2  | 2  |
| <i>fimH+sfa+afa+pap+cnf+fyuA+iutA+kpsMTII+traT</i>    |    |    |
| <i>fimH+sfa+pap+focG+hlyA+fyuA+iutA+kpsMTII+traT</i>  | 1  |    |
| <b>10 генов вирулентности</b>                         | 1  | 1  |
| <i>fimH+afa+pap+foc+ibe+cnf+iutA+kpsMTII+traT+PAI</i> | 1  |    |
| <b>Всего</b>                                          | 94 | 55 |

## ПРИЛОЖЕНИЕ 11

Генотипы вирулентности штаммов *E. coli*, выделенных при флегмонозных аппендицитах

| Спектр генов вирулентности              | Количество |           |
|-----------------------------------------|------------|-----------|
|                                         | штаммов    | генотипов |
| <b>1-2 гена вирулентности</b>           | 9          | 7         |
| <i>fimH</i>                             | 2          |           |
| <i>fimH+traT</i>                        | 2          |           |
| <i>fimH+kpsMTII</i>                     | 1          |           |
| <i>fimH+ iutA</i>                       | 1          |           |
| <i>iutA+kpsMTII</i>                     | 1          |           |
| <i>kpsMTII+traT</i>                     | 1          |           |
| <i>fyuA+kpsMTII</i>                     | 1          |           |
| <b>3 гена вирулентности</b>             | 8          | 6         |
| <i>fimH+afa+kpsMTII</i>                 | 1          |           |
| <i>fimH+pap+kpsMTII</i>                 | 1          |           |
| <i>fimH+kpsMTII+traT</i>                | 2          |           |
| <i>fyuA+iutA+kpsMTII</i>                | 2          |           |
| <i>fimH+cvaC+kpsMTII</i>                | 1          |           |
| <i>fimH+fyuA+kpsMTII</i>                | 1          |           |
| <b>4 гена вирулентности</b>             | 16         | 10        |
| <i>fimH+fyuA+kpsMTII+traT</i>           | 2          |           |
| <i>fimH+afa+kpsMTII+traT</i>            | 2          |           |
| <i>fimH+afa+pap+traT</i>                | 1          |           |
| <i>fimH+pap+hlyA+kpsMTII</i>            | 1          |           |
| <i>fimH+pap+kpsMTII+traT</i>            | 1          |           |
| <i>fyuA+ iutA+kpsMTII+traT</i>          | 2          |           |
| <i>fimH+pap+cnf+kpsMTII</i>             | 2          |           |
| <i>fimH+cvaC+iutA+kpsMTII</i>           | 1          |           |
| <i>fimH+hlyA+kpsMTII+traT</i>           | 1          |           |
| <i>fimH+fyuA+iutA+kpsMTII</i>           | 3          |           |
| <b>5 генов вирулентности</b>            | 21         | 13        |
| <i>fimH+fyuA+iutA+kpsMTII+traT</i>      | 5          |           |
| <i>fimH+focG+iutA+kpsMTII +traT</i>     | 1          |           |
| <i>fimH+afa+fyuA+kpsMTII+traT</i>       | 3          |           |
| <i>cvaC+fyuA+iutA+kpsMTII+PAI</i>       | 1          |           |
| <i>fimH+afa+fyuA+iutA+traT</i>          | 1          |           |
| <i>fimH+pap+iutA+kpsMTII+traT</i>       | 2          |           |
| <i>fimH+cvaC+fyuA+iutA+traT</i>         | 1          |           |
| <i>fimH+cvaC+iutA+kpsMTII+traT</i>      | 1          |           |
| <i>fimH+pap+cnf+ kpsMTII+traT</i>       | 1          |           |
| <i>fimH+pap+fyuA+iutA+kpsMTII</i>       | 1          |           |
| <i>fimH+cvaC+fyuA+iutA+kpsMTII</i>      | 2          |           |
| <i>fimH+sfa+pap+cnf+kpsMTII</i>         | 1          |           |
| <i>fimH+hly+fyuA+kpsMTII+traT</i>       | 1          |           |
| <b>6 генов вирулентности</b>            | 6          | 5         |
| <i>fimH+cvaC+fyuA+iutA+kpsMTII+traT</i> | 2          |           |
| <i>fimH+afa+fyuA+aer+kpsMTIII+traT</i>  | 1          |           |
| <i>fimH+afa+focG+fyuA+aer+kpsMTII</i>   | 1          |           |
| <i>fimH+pap+cvaC+cnf+kpsMTII+traT</i>   | 1          |           |
| <i>fimH+sfa+pap+cnf+kpsMTII+traT</i>    | 1          |           |

## Продолжение приложения 11

|                                                      |           |           |
|------------------------------------------------------|-----------|-----------|
| <b>7 генов вирулентности</b>                         | <b>3</b>  | <b>3</b>  |
| <i>fimH+pap+focG+fyuA+aer+kpsMTII+traT</i>           | 1         |           |
| <i>fimH+afa+cvaC+fyuA+aer+kpsMTII+traT</i>           | 1         |           |
| <i>fimH+sfa+pap+hlyA+cvaC+cnf+kpsMTII</i>            | 1         |           |
| <b>8 генов вирулентности</b>                         | <b>2</b>  | <b>2</b>  |
| <i>fimH+sfa+pap+hlyA+cvaC+cnf+fyuA+kpsMTII</i>       | 1         |           |
| <i>fimH+pap+cvaC+cnf+fyuA+iutA+kpsMTII+traT</i>      | 1         |           |
| <b>9 генов 1 штамм 1 фенотип 1 патоген</b>           | <b>1</b>  | <b>1</b>  |
| <i>fimH+pap+focG+hlyA+cnf+fyuA+iutA+kpsMTII+traT</i> | 1         |           |
| <b>Всего</b>                                         | <b>65</b> | <b>47</b> |



## ПРИЛОЖЕНИЕ 12

Генотипы вирулентности штаммов *E. coli*, выделенных из мочи амбулаторных пациентов

| спектр генов вирулентности         | количество |           |
|------------------------------------|------------|-----------|
|                                    | штаммов    | генотипов |
| <b>1-2 гена вирулентности</b>      | <b>4</b>   | <b>4</b>  |
| <i>iutA</i>                        | 1          |           |
| <i>iutA+PAI</i>                    | 1          |           |
| <i>fimH+fyuA</i>                   | 1          |           |
| <i>fimH+iutA</i>                   | 1          |           |
| <b>3 гена вирулентности</b>        | <b>17</b>  | <b>6</b>  |
| <i>fimH+iutA+traT</i>              | 1          |           |
| <i>fimH+iutA+kpsMTII</i>           | 1          |           |
| <i>fimH+fyuA+kpsMTII</i>           | 2          |           |
| <i>fimH+fyuA+ iutA</i>             | 7          |           |
| <i>fimH+fyuA+ traT</i>             | 1          |           |
| <i>fimH+fyuA+PAI</i>               | 4          |           |
| <i>fyuH+kpsMTKI+PAI</i>            | 1          |           |
| <b>4 гена вирулентности</b>        | <b>19</b>  | <b>12</b> |
| <i>fimH+pap+iutA+PAI</i>           | 1          |           |
| <i>fimH+pap+fyuA+iutA</i>          | 2          |           |
| <i>fimH+afa+hly+iutA</i>           | 1          |           |
| <i>fimH+cnf+fyuA+iutA</i>          | 1          |           |
| <i>fimH+cvaC+fyuA+kpsMTII</i>      | 1          |           |
| <i>fimH+fyuA+iutA+kpsMTII</i>      | 3          |           |
| <i>fimH+iutA+traT+PAI</i>          | 1          |           |
| <i>fimH+hlyA+fyuA+PAI</i>          | 2          |           |
| <i>fimH+fyuA+iutA+PAI</i>          | 4          |           |
| <i>fimH+fyuA+traT+PAI</i>          | 1          |           |
| <i>fimH+fyuA+kpsMTII+PAI</i>       | 1          |           |
| <i>cvaC+fyuA+iutA+traT</i>         | 1          |           |
| <b>5 генов вирулентности</b>       | <b>28</b>  | <b>18</b> |
| <i>fimH+fyuA+iutA+kpsMTII+traT</i> | 3          |           |
| <i>fimH+fyuA+iutA+kpsMTII+PAI</i>  | 5          |           |
| <i>fimH+afa+iutA+traT+PAI</i>      | 1          |           |
| <i>fimH+cnf+fyuA+traT+PAI</i>      | 1          |           |
| <i>fimH+fyuA+iutA+traT+PAI</i>     | 5          |           |
| <i>fimH+pap+iutA+ traT+PAI</i>     | 1          |           |
| <i>fimH+pap+fyuA+iutA+PAI</i>      | 1          |           |
| <i>fimH+pap+iutA+kpsMTKI+PAI</i>   | 1          |           |
| <i>fimH+pap+hly+fyuA+iutA</i>      | 1          |           |
| <i>fimH+cvaC+fyuA+iutA+kpsMTII</i> | 1          |           |
| <i>fimH+cvaC+fyuA+iutA+ PAI</i>    | 1          |           |
| <i>fimH+hlyA+fyuA+traT+PAI</i>     | 1          |           |
| <i>fimH+hlyA+cvaC+iutA+PAI</i>     | 1          |           |
| <i>fimH+pap+fyuA+iutA+PAI</i>      | 1          |           |
| <i>fimH+pap+fyuA+iutA+traT</i>     | 1          |           |
| <i>fimH+sfa+fyuA+iutA+PAI</i>      | 1          |           |
| <i>fimH+sfa+pap+cnf+iutA</i>       | 1          |           |
| <i>fimH+pap+fyuA+iutA+traT</i>     | 1          |           |
| <b>6 генов вирулентности</b>       | <b>21</b>  | <b>17</b> |

## Продолжение приложения 12

|                                                     |     |    |
|-----------------------------------------------------|-----|----|
| <i>fimH+hlyA+cnf+fyuA+iutA+PAI</i>                  | 1   |    |
| <i>fyuA+iutA+kpsMTII+traT+PAI</i>                   | 2   |    |
| <i>fimH+pap+cnf+fyuA+iutA+PAI</i>                   | 1   |    |
| <i>fimH+sfa+cnf+fyuA+iutA+PAI</i>                   | 1   |    |
| <i>fimH+cvaC+fyuA+iutA+kpsMTII+traT</i>             | 1   |    |
| <i>fimH+cnf+fyuA+iutA+kpsMTII+PAI</i>               | 1   |    |
| <i>fimH+pap+fyuA+iutA+kpsMTII+traT</i>              | 1   |    |
| <i>fimH+sfa+fyuA+iutA+traT+PAI</i>                  | 1   |    |
| <i>fimH+fyuA+iutA+kpsMTII+traT+PAI</i>              | 4   |    |
| <i>fimH+cvaC+fyuA+iutA+kpsMTIII+PAI</i>             | 1   |    |
| <i>fimH+pap+hlyA+fyuA+iutA+traT</i>                 | 1   |    |
| <i>fimH+pap+hlyA+fyuA+traT+PAI</i>                  | 1   |    |
| <i>fimH+sfa+hlyA+cnf+fyuA+iutA</i>                  | 1   |    |
| <i>fimH+sfa+hlyA+fyuA+iutA+PAI</i>                  | 1   |    |
| <i>fimH+sfa+pap+cnf+fyuA+iutA</i>                   | 1   |    |
| <i>fimH+cvaC+fyuA+iutA+kpsMTII+PAI</i>              | 1   |    |
| <i>fimH+cvaC+fyuA+iutA+traT+PAI</i>                 | 1   |    |
| <b>7 генов вирулентности</b>                        | 5   | 5  |
| <i>fimH+sfa+pap+cnf+fyuA+kpsMTII+PAI</i>            | 1   |    |
| <i>fimH+afa+pap+fyuA+iutA+kpsMTII+PAI</i>           | 1   |    |
| <i>fimH+hlyA+cvaC+fyuA+iutA+kpsMTKI+PAI</i>         | 1   |    |
| <i>fimH+cvaC+fyuA+iutA+kpsMTKI+traT+PAI</i>         | 1   |    |
| <i>fimH+pap+hlyA+cnf+fyuA+iutA+traT</i>             | 1   |    |
| <b>8 генов вирулентности</b>                        | 4   | 3  |
| <i>fimH+cvaC+cnf+fyuA+iutA+kpsMTII+traT+PAI</i>     | 1   |    |
| <i>fimH+pap+hlyA+fyuA+iutA+kpsMTII+traT+PAI</i>     | 2   |    |
| <i>fimH+sfa+pap+hlyA+cnf+fyuA+iutA+kpsMTKI</i>      | 1   |    |
| <b>9 генов вирулентности</b>                        | 2   | 2  |
| <i>fimH+sfa+afa+pap+cvaC+fyuA+iutA+kpsMTIII+PAI</i> | 1   |    |
| <i>fimH+sfa+pap+hlyA+cvaC+cnf+iutA+kpsMTKI+PAI</i>  | 1   |    |
| <b>Всего</b>                                        | 100 | 79 |