



Характеристика вирулентных штаммов *Escherichia coli*, выделенных от пациентов с урологической инфекцией

Слукин П.В.¹, Асташкин Е.И.¹, Асланян Е.М.¹, Ершова М.Г.², Полетаева Е.Д.²,
Светоч Э.А.¹, Шепелин А.П.¹, Фурсова Н.К.¹

¹Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии Роспотребнадзора, Оболенск, Россия;

²Инфекционная клиническая больница № 1, Ярославль, Россия

Аннотация

Введение. Инфекции мочевыводящих путей (ИМП), вызванные уропатогенными *Escherichia coli* (UPEC), ежегодно поражают 150 млн человек.

Цель: характеристика внегоспитальных штаммов UPEC, выделенных от пациентов с ИМП в Ярославле в 2016–2017 гг.

Материалы и методы. Чувствительность штаммов UPEC ($n = 20$) к антимикробным препаратам определяли методом серийных разведений; гены антибиотикорезистентности и вирулентности, филогруппы, O-серогруппы и сиквенс-типы идентифицировали методом ПЦР и полногеномного секвенирования. Вирулентность штаммов изучали на модели личинок *Galleria mellonella*.

Результаты. Штаммы UPEC отнесены к категориям лекарственно-резистентных ($n = 11$) и множественно лекарственно-резистентных ($n = 9$) патогенов. Выявлены гены β -лактамаз bla_{TEM} ($n = 10$), bla_{CTX-M} ($n = 6$), интегроны класса 1 ($n = 8$) и генные кассеты $dfrA17-aacA5$ ($n = 2$), $dfrA1$ ($n = 1$) и $aacA4-cmlA1$ ($n = 1$). Идентифицированы гены вирулентности UPEC: адгезинов $fimH$, $papG$, $sfaS$, $focG$, $afa/draBC$, $csgA$, сидерофоров $iroN$, $fyuA$, $iutA$, факторов противодействия иммунитету макроорганизма $ompT$ и $traT$, токсинов $hlyA$, $cnf1$, usp , транспортера капсулы $kpsMTII$, колицина $svaC$, островов патогенности I₅₃₆, II₅₃₆, III₅₃₆, IV₅₃₆, II_{J96} и II_{CFT073}. Определены высоковирулентные и слабовирулентные для личинок *G. mellonella* штаммы UPEC с LD₅₀ 10^4 – 10^5 и 10^6 – 10^7 КО соответственно. Идентифицированы филогруппы A, B1, B2, E и F, серогруппы O2, O4, O6, O9, O11, O15, O18, O25, O75 и O89, известные сиквенс-типы ST14, ST58, ST69, ST73, ST93, ST127, ST131, ST141, ST165, ST297, ST457, ST537, ST744, ST1434 и впервые найденные в данном исследовании ST9239 и ST10102.

Заключение. Выявленное генетическое разнообразие внегоспитальных штаммов UPEC согласуется с мировой тенденцией распространения патогенов человека, обладающих одновременно высокой вирулентностью и множественной лекарственной устойчивостью. Это позволяет проспективно охарактеризовать текущую эпидемиологическую ситуацию, дать прогноз её развития, а также определить оптимальные направления терапии.

Ключевые слова: UPEC, уропатогенные *Escherichia coli*, гены факторов патогенности, мультилокусное секвенирование-типирование, полногеномное секвенирование, сиквенс-типы, *Galleria mellonella*

Этическое утверждение. В работе использована модель личинок *Galleria mellonella*, которые не подпадают под этические ограничения для моделей на млекопитающих животных. При содержании животных были соблюдены все применимые институциональные принципы ухода.

Источник финансирования. Исследование выполнено в рамках Отраслевой программы Роспотребнадзора.

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

Для цитирования: Слукин П.В., Асташкин Е.И., Асланян Е.М., Ершова М.Г., Полетаева Е.Д., Светоч Э.А., Шепелин А.П., Фурсова Н.К. Характеристика вирулентных штаммов *Escherichia coli*, выделенных от пациентов с урологической инфекцией. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2021;98(6):671–684. DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-134>

Original article

<https://doi.org/10.36233/0372-9311-134>

Characterization of virulent *Escherichia coli* strains isolated from patients with urological infection

Pavel V. Slukin¹, Eugeny I. Astashkin¹, Elena M. Aslanyan¹, Marina G. Ershova², Elena D. Poletaeva², Edward A. Svetoch¹, Anatoly P. Shepelin¹, Nadezhda K. Fursova¹

¹State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology, Obolensk, Russia;

²Infectious Clinical Hospital No. 1, Yaroslavl, Russia

Abstract

Objective. Urinary tract infections (UTIs) caused by uropathogenic *Escherichia coli* (UPEC) affect 150 million people annually.

Purpose: Characteristics of non-hospital strains of UPEC isolated from patients with UTI in Yaroslavl in 2016–2017.

Materials and methods. Susceptibility of UPEC strains ($n = 20$) to antibacterials was measured by the serial dilution method; the antibiotic resistance and virulence genes, phylogroups, O-serogroups and sequence types were identified by PCR and whole genome sequencing. The virulence of the strains was studied using the model of *Galleria mellonella* larvae.

Results. UPEC strains were classified as resistant ($n = 11$) and multi-drug resistant ($n = 9$) pathogens. Beta-lactamase genes bla_{TEM} ($n = 10$), bla_{CTX-M} ($n = 6$), class 1 integrons ($n = 8$), and gene cassettes $dfrA17-aadA5$ ($n = 2$), $dfrA1$ ($n = 1$) and $aacA4-cmlA1$ ($n = 1$) were identified. UPEC-virulence genetic determinants coding adhesins $fimH$, $papG$, $sfaS$, $focG$, $afa/draBC$, $csgA$, siderophores $iroN$, $fyuA$, $iutA$, counteracting factors of host immunity $ompT$, $traT$, toxins $hlyA$, $cnf1$, usp , capsule transporter $kpsMTII$, colicin $cvaC$, and pathogenicity islands I_{536'}, II_{536'}, III_{536'}, IV_{536'}, II_{J96} и II_{CFT073} were detected. Highly virulent and slightly virulent for *G. mellonella* larvae UPEC strains were obtained with LD₅₀ 10^4 – 10^5 and 10^6 – 10^7 CFU, respectively. The phylogroups A, B1, B2, E and F, serogroups O2, O4, O6, O9, O11, O15, O18, O25, O75 and O89, known sequence types ST14, ST58, ST69, ST73, ST93, ST127, ST131, ST-141, ST165, ST297, ST457, ST537, ST744, ST1434 and novel ST9239 and ST10102 were revealed.

Conclusions. The identified genetic diversity of non-hospital UPEC strains is consistent with the observed global trend in the spread of human pathogens, which are characterized with both high virulence and multiple drug resistance. This makes possible to assess prospectively the current epidemiological situation, give a forecast for its development in the future, as well as determine the optimal therapeutic options.

Keywords: UPEC, uropathogenic *Escherichia coli*, pathogenic factor genes, multilocus sequence typing, whole genome sequencing, sequence-type, *Galleria mellonella*

Ethics approval. We used a model of *Galleria mellonella* larvae, which are not subject to ethical restrictions for mammalian models. All applicable institutional care guidelines have been observed in the keeping of the animals.

Funding source. The study was done on the frame of the Sectoral Programme of Rospotrebnadzor.

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

For citation: Slukin P.V., Astashkin E.I., Aslanyan E.M., Ershova M.G., Poletaeva E.D., Svetoch E.A., Shepelin A.P., Fursova N.K. Characterization of virulent *Escherichia coli* strains isolated from patients with urological infection. *Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology = Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii*. 2021;98(6):671–684.

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-134>

Введение

Инфекции мочевыводящих путей (ИМП) — широко распространённые бактериальные инфекции, ежегодно поражающие в мире 150 млн человек [1]. Доминирующей возбудитель ИМП — уropathогенные *Escherichia coli* (uropathogenic *Escherichia coli* — UPEC), которые вызывают 90% внегоспитальных и 50% госпитальных урологических инфекций [2]. В России в 2018 г. *E. coli* были ведущим возбудителем ИМП в разных субпопуляциях пациентов — от 71 до 80% [3]. Около 50–60% взрослых женщин имеют хотя бы один эпизод ИМП

в течение жизни [4]. UPEC-инфекции зачастую вызваны множеством резистентными *E. coli*, в частности, глобальным доминирующим клоном UPEC сиквенс-типа ST-131, несущим β -лактамазы расширенного спектра (БЛРС) [5]. У продуцентов БЛРС были идентифицированы гены bla_{CTX-M} (до 100% штаммов), bla_{SHV} (~63%), bla_{TEM} (~11%) [6]. Фенотип множественной резистентности ассоциирован с наличием также генетических детерминант, определяющих устойчивость к аминогликозидам (aac , aad , ant , aph), сульфаниламидам (dfr) и фторхинолонам (мутации в хромосомном гене $gyrA$), а также

наличием интегров класса 1 [7]. К генетическим детерминантам, ассоциированным с проявлением патогенных свойств UPEC, относятся гены адгезинов, токсинов, рецепторов сидерофоров, факторов противодействия иммунной системе макроорганизма, транспортёров капсул 2-й и 3-й групп, колицина V и островов патогенности [6]. В России все штаммы UPEC, выделенные в 2017–2018 гг., несли гены, ответственные за синтез сидерофоров (*irp2*, *iuc*, *iroN*), устойчивость и персистенцию (*ompT*) и факторы адгезии (*fimH*, *iha*) [8].

Штаммы UPEC характеризуются высокой степенью генетической гетерогенности, поэтому важное эпидемиологическое значение имеет молекулярно-генетическая характеристика, позволяющая определить принадлежность штаммов к филогенетическим группам (A, B1, B2, D, E и F), O-группам и сиквенс-типам. Штаммы UPEC, выделенные в разных регионах мира, преимущественно относятся к филогруппам B2 и D, серогруппам O8, O15, O25 и O75, сиквенс-типам ST131, ST69, ST73, ST10, ST127 и ST140 [9–11]. В России описаны штаммы UPEC филогенетических групп A, B1, B2, D, E и F [10, 12] и серогрупп O1, O2, O6, O7, O8, O16, O25 и O75 [13, 14]. Публикации о сиквенс-типах штаммов UPEC, выделенных в России, отсутствуют.

Для определения вирулентности штаммов UPEC в последнее время широко используется хорошо охарактеризованная модель личинок большой восковой моли *Galleria mellonella* [5, 15]. Адекватность использования данной модели обеспечивается наличием у личинок элементов иммунной системы (гемоциты гемолимфы, антимикробные пептиды и факторы опсонизации), аналогичных элементам иммунной системы человека [16]. Наибольшей вирулентностью для личинок *G. mellonella* обладали штаммы UPEC наиболее распространённых в мире генетических линий: ST69, ST73 и ST127, а также серогрупп O2 и O6 [15].

Целью данной работы была характеристика штаммов *E. coli*, выделенных от пациентов с внегоспитальными ИМП в ходе пилотного одноцентрового исследования в Ярославле, в том числе определение фенотипов и генотипов антибиотикорезистентности, идентификация генов вирулентности, оценка уровней вирулентности на модели личинок *G. mellonella*, определение принадлежности к филогенетическим группам, O-серогруппам и сиквенс-типам.

Материалы и методы

Биоэтические требования

Использованные в данном исследовании материалы не содержат персональных данных пациентов. В соответствии с требованиями Биоэтического комитета РФ каждый пациент подписывал инфор-

мированное согласие при поступлении в лечебное учреждение на проведение лабораторных исследований.

Штаммы, условия культивирования и хранения

Штаммы *E. coli* ($n = 20$) выделены из образцов мочи от пациентов урологического отделения Инфекционной клинической больницы № 1 г. Ярославля при поступлении в лечебное учреждение, в рамках пилотного одноцентрового клинического исследования в декабре 2016 г. – январе 2017 г. Культуры *E. coli* выращивали на питательной среде ГРМ 1 (ФБУН ГНЦ ПМБ) в аэробных условиях при 37°C. Хранение культур осуществляли в 20% растворе глицерина при –70°C.

Видовая идентификация

Видовую идентификацию бактерий осуществляли с помощью высевов на дифференциально-диагностические питательные среды «Агар Эндо-ГРМ», «Агар Клиглера-ГРМ», «Железо-глюкозо-лактозный агар с мочевиной» и «Ацетатный агар» (ФБУН ГНЦ ПМБ, Оболensk, Россия), с последующим подтверждением на приборе «MALDI-TOF Biotyper» («Bruker»).

Чувствительность к антимикробным препаратам

Минимальные подавляющие концентрации (МПК) 17 антимикробных препаратов (АМП) 6 функциональных классов: β-лактамов (ампициллин, ампициллин/сульбактам, амоксициллин/клавуланат, цефуросим, цефотаксим, цефтазидим, азтреонам и меропенем), фторхинолонов (ципрофлоксацин, левофлоксацин и норфлоксацин), аминогликозидов (гентамицин), фосфомицинов (фосфомицин), нитрофуранов (фуразолидон, фурацилин и нитрофурантоин) и полимиксинов (колистин) («Sigma-Aldrich») определяли методом микроразведений в бульоне в соответствии с рекомендациями EUCAST Breakpoint tables v 9.0¹. В качестве стандартного использовали штамм *E. coli* ATCC25922, полученный из Государственной коллекции патогенных микроорганизмов и клеточных культур «ГКПМ-Оболensk». Категорию резистентности штамма определяли в соответствии с [17].

Детекция генов антибиотикорезистентности и вирулентности

Гены, кодирующие β-лактамазы *bla*_{TEM}, *bla*_{SHV}, *bla*_{CTX-M}, *bla*_{OXA-48} и *bla*_{NDM}, а также интегроны классов 1 и 2 выявляли методом ПЦР со специфичными праймерами [18]. Острова патогенности UPEC I₅₃₆, II₅₃₆, III₅₃₆, IV₅₃₆, I₉₆, II₉₆, I_{CFT073} и II_{CFT073} и гены, кодирующие факторы вирулентности UPEC, — фим-

¹ URL: <http://www.eucast.org>

брии типа I *fimH*, Р фимбрии *papGI*, *papGII*, *papGIII*, S фимбрии *sfaS*, F1С фимбрии *focG*, АFA/Dr адгезин *afa/draBC*, основной белок курли волокон *csgA*, гемолизин *hlyA*, цитотоксический некротический фактор *cnfI*, уропатогенный специфический белок *usp*, рецепторы сидерофоров сальмохелина *iroN*, иерсиниабактина *fyuA* и аэробактина *iutA*, протеазу внешней мембраны *ompT*, липопротеин наружной мембраны *traT*, транспортёры капсулы 2-го типа *kpsMTII* и 3-го типа *kpsMTIII*, основной белок колицина V *cvaC* — определяли методом ПЦР со специфичными праймерами [8, 19].

Определение вирулентности штаммов

Уровень вирулентности штаммов *E. coli* определяли на модели личинок *G. mellonella*, как описано в работе [15]. Оценивали количество особей, погибших в результате введения им в гемоцель суспензий бактерий в дозах 10^4 , 10^5 , 10^6 , 10^7 , 10^8 и 10^9 КОЕ/особь. Все эксперименты проводили в 3 повторностях. Расчёт среднелетальной дозы (LD_{50}) штаммов *E. coli* для личинок проводили согласно методу Кербера в модификации Ашмарина [11]. В опытах использовали личинок *G. mellonella*, полученных из лабораторной культуры, поддерживаемой во ФБУН ГНЦ ПМБ.

Идентификация филогенетических групп

Принадлежность штаммов UPEC к филогенетическим группам *E. coli* A, B1, B2, D, E и F определяли с помощью детекции генов, кодирующих геминовый рецептор внешней мембраны *chuA*, гипотетический протеин *yjaA*, анкирин-повторяющийся белок A *arpA*, триптофансинтетазу α -SU *trpA* и эстеразу TspE4.C2, согласно [21].

Определение серологических O-групп

Серологические O-группы определяли методом ПЦР со специфичными праймерами на гены кластера липополисахаридов *wzx*₀₁, *wzx*₀₄, *wzx*₀₁₆, *wzx*₀₁₈, *wzy*₀₂, *wzy*₀₆, *wzy*₀₁₅, *wzy*₀₂₅, *wzy*₀₇₅, *wzy*₀₁₁, *wzt*₀₉ и *wzt*₀₈₉ [22].

Мультилокусное секвенирование-типирование (МЛСТ)

Сиквенс-типы штаммов *E. coli* определяли с помощью ПЦР-амплификации и секвенирования 7 генов «домашнего хозяйства»: аденилаткиназы *adk*, фумаратгидратазы *fumC*, ДНК-гиразы *gyrB*, изоцитратдегидрогеназы *icd*, малатдегидрогеназы *mdh*, аденил-сукцинатдегидрогеназы *purA* и АТФ/ГТФ-связывающего мотива гена *recA* с последующим определением аллельного профиля на сайте Уорикского университета (Великобритания)² [23].

² URL: http://enterobase.warwick.ac.uk/species/ecoli/allele_st_search

Секвенирование нуклеотидных последовательностей

Последовательности ПЦР-продуктов секвенировали в ООО «СИНТОЛ» на генетическом анализаторе «ABI Prizm 3130xl» с использованием наборов для секвенирования «BigDye v3.1» и анализировали с помощью программ «Chromas»³ («Technelysium»), «Vector NTI 9» («Life Technologies») и BLAST⁴.

Полногеномное секвенирование

Полногеномное секвенирование штаммов *E. coli* проводили с использованием наборов «Nextera DNA Library Preparation Kit» («Illumina») и «MiSeq Reagent Kits v3» («Illumina») на платформе «Illumina MiSeq» согласно инструкции производителя. Единичные прочтения собирали в контиги с использованием программного обеспечения «SPAdes 3.9.0» [24]. Аннотировали собранные геномы с помощью сервера NCBI Prokaryotic Genome Annotation Pipeline [25]. Анализ полногеномных последовательностей проводили с использованием инструментов Центра геномной эпидемиологии⁵.

Филогенетический анализ

Филогенетический анализ штаммов *E. coli* проводили с использованием ресурсов NCBI «Blastn» и «Blast Tree View»⁶ на основании сравнения искусственно собранных последовательностей аллельных профилей генов МЛСТ.

Статистический анализ

Статистическую обработку экспериментальных данных проводили с помощью пакета «Microsoft Office 2010» и программы «SPSS Statistica 17.0» («IBM»). Проверку распределения на нормальность осуществляли с помощью критерия Колмогорова–Смирнова, нормальным считалось распределение при двусторонней асимптоматической значимости более 0,05. Различия сформированных групп вирулентности подтверждали методом двухвыборочного *t*-критерия Стьюдента для независимых выборок. Различия считали значимыми при величине коэффициента достоверности $p < 0,01$.

Депонирование нуклеотидных последовательностей в базе данных GenBank

В базе данных GenBank размещены 9 полногеномных последовательностей штаммов UPEC: SERS01000000, SERT01000000, SERU00000000, SERV00000000, JACSYM00000000, SERW01000000, SERX00000000, JACSYL00000000, SERY00000000.

³ URL: <http://technelysium.com.au/wp/chromas>

⁴ URL: <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>

⁵ URL: <http://www.genomicepidemiology.org>

⁶ URL: <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/blast>

Результаты

Штаммы

Штаммы *E. coli* выделены от 20 женщин 23–84 лет с урологическими диагнозами: хронический цистит ($n = 12$), инфекция мочевыводящей системы без установленной локализации ($n = 3$), цистит ($n = 2$), мочекаменная болезнь ($n = 2$) и гиперактивный мочевого пузыря ($n = 1$) (табл. 1).

Фенотипы и генотипы антибиотикорезистентности

Охарактеризованные штаммы UPEC отнесены к 2 категориям резистентности к АМП: резистентные ($n = 11$) и множественно резистентные ($n = 9$). Резистентные штаммы были устойчивы к препаратам 1–2-й функциональных групп: β-лактамам и нитрофуранам. Множественно резистентные штаммы были устойчивы к препаратам трех (β-лактамам, фторхинолонам и нитрофуранам), четырех (β-лактамам, фторхинолонам, аминоглико-

зидам и нитрофуранам) и пяти (β-лактамам, фторхинолонам, аминогликозидам, полимиксином и нитрофуранам) функциональных групп. При этом все штаммы были чувствительны к фосфомицину (МПК < 32 мг/л), нитрофурантоину (МПК < 64 мг/л) и меропенему (МПК < 0,5 мг/л).

В изучаемых штаммах UPEC выявлены гены β-лактамаз bla_{TEM} ($n = 10$), bla_{CTX-M} ($n = 6$), интегразы класса 1 ($n = 8$) и генные кассеты интегронов класса 1 $dfrA17-aadA5$ ($n = 2$), $dfrA1$ ($n = 1$) и $aacA4-cmlA1$ ($n = 1$). Генов bla_{SHV} , bla_{KPC} , bla_{OXA-48} и bla_{NDM} не обнаружено. Шесть штаммов не имели детектируемых генов антибиотикорезистентности. Выявлено 5 вариантов сочетаний генетических детерминант резистентности: 1 ген bla_{TEM} — у 4 штаммов, 1 ген bla_{CTX-M} — у 2, сочетание 2 генов $bla_{TEM}+intl1$ — у 3, 2 генов $bla_{CTX-M}+intl1$ — у 2, набор из 3 генов $bla_{TEM}+bla_{CTX-M}+intl1$ — у 3 штаммов. Генные кассеты интегронов несли детерминанты устойчивости к аминогликозидам $aadA5$ и $aacA4$, сульфаниламидам

Таблица 1. Клинические данные и резистентность к АМП штаммов *E. coli*

Table 1. Clinical data and antibacterial resistance of *E. coli* strains

Штамм <i>E. coli</i> <i>E. coli</i> strain	Дата выделения Strain isolation date	Возраст пациента, лет Patient's age, years	Диагноз Diagnosis	Фенотип резистентности Resistance phenotype	Категория резистентности Resistance category	Гены антибиотикорезистентности Antibiotic resistance genes
U18	14.12.2016	49	ХЦ / CC	BL QNL AMI NIT	MDR	bla_{TEM}
U10	13.12.2016	72	МКБ / UL	BL QNL AMI NIT POL	MDR	bla_{TEM} , bla_{CTX-M} , $intl1$
U22	22.12.2016	63	ХЦ / CC	BL QNL AMI NIT POL	MDR	bla_{TEM} , bla_{CTX-M} , $intl1$
U8	23.12.2016	74	ХЦ / CC	BL NIT	R	—
U9	23.12.2016	67	ИМВС / UINL	BL NIT	R	bla_{CTX-M}
U15	09.01.2017	54	ХЦ / CC	BL NIT	R	—
U14	09.01.2017	61	ХЦ / CC	BL NIT	R	bla_{TEM} , $intl1$
U24	19.12.2016	66	ХЦ / CC	BL QNL NIT	MDR	bla_{TEM} , $intl1$ ($dfrA17-aadA5$)
U13	21.12.2016	77	ХЦ / CC	BL QNL NIT	MDR	bla_{TEM}
U17	19.12.2016	74	ГАМП / OB	BL NIT	R	bla_{TEM}
U23	21.12.2016	38	ХЦ / CC	NIT	R	—
U26	26.12.2016	76	МКБ / UL	BL QNL NIT	MDR	bla_{TEM} , bla_{CTX-M} , $intl1$
U25	23.12.2016	23	ХЦ / CC	NIT	R	—
U11	21.12.2016	84	ХЦ / CC	BL QNL NIT	MDR	bla_{CTX-M} , $intl1$
U12	14.12.2016	27	Ц / C	BL QNL AMI NIT	MDR	bla_{CTX-M}
U20	14.12.2016	26	Ц / C	BL NIT	R	bla_{TEM}
U28	26.12.2016	76	ИМВС / UINL	BL QNL NIT	MDR	bla_{CTX-M} , $intl1$ ($aacA4-cmlA1$, $dfrA17-aadA5$)
U16	14.12.2016	79	ХЦ / CC	BL NIT	R	bla_{TEM} , $intl1$ ($dfrA1$)
U19	29.12.2016	53	ХЦ / CC	NIT	R	—
U21	09.01.2017	24	ИМВС / UINL	BL NIT	R	—

Примечание. ХЦ — хронический цистит; МКБ — мочекаменная болезнь; ИМВС — инфекция мочевыводящей системы без установленной локализации; ГАМП — гиперактивный мочевого пузыря; Ц — цистит; BL — бета-лактамы; QNL — хинолоны; AMI — аминогликозиды; NIT — нитрофураны; POL — полимиксины; R — резистентный штамм; MDR — множественно резистентный штамм.

Note. CC — chronic cystitis; UL — urolithiasis; UINL — urinary tract infection with no known localization; OB — overactive bladder; C — cystitis; BL — beta-lactams; QNL — quinolones; AMI — aminoglycosides; NIT — nitrofurans; POL — polymyxins; R — resistant strain; MDR — multiply resistant strain.

dfrA1 и *dfrA17*, хлорамфениколу *cmiA1*. У 5 интегровых генных кассет отсутствовали (табл. 1).

Генотипы вирулентности штаммов UPEC

В изучаемых штаммах *E. coli* выявлены гены факторов вирулентности UPEC 7 функциональных групп: адгезинов *fimH* ($n = 20$), *csgA* ($n = 20$), *focG* ($n = 4$), *papGII* ($n = 4$), *papGIII* ($n = 4$) и *sfaS* ($n = 3$); сидерофоров *fyuA* ($n = 15$), *iroN* ($n = 11$) и *iutA* ($n = 6$); токсинов *hlyA* ($n = 7$), *cnf1* ($n = 5$) и *usp* ($n = 9$); транспортёров капсулы *kpsMTIII* ($n = 13$); факторов противодействия иммунитету *ompT* ($n = 16$) и *traT* ($n = 11$); колицина *cvaC* ($n = 1$); а также островов патогенности I₅₃₆ ($n = 5$), II₅₃₆ ($n = 4$), III₅₃₆ ($n = 1$), IV₅₃₆ ($n = 15$), II₁₉₆ ($n = 5$) и II_{CFT073} ($n = 9$). Гены адгезинов *papGI* и *afa/draBC*, транспортёра капсулы 3-го типа *kpsMTIII* и острова патогенности I₁₉₆ и I_{CFT073} в этих штаммах не обнаружены (табл. 2).

В разных штаммах UPEC было выявлено разное количество генов вирулентности — от 2 до 14. Гены адгезинов были идентифицированы во всех изучаемых штаммах, гены сидерофоров — в 18, гены факторов противодействия иммунитету — в 17, гены транспортеров капсулы — в 14, гены токсинов — в 9, ген колицина — в 1, острова патогенности — в 15 штаммах. Анализ сочетания факторов вирулентности разных функциональных групп показал, что 7 штаммов несли все 7 групп, 1 штамм — 6 групп, 4 штамма — 5 групп, 4 штамма — 4 группы, 2 штамма — 3 группы, 2 штамма — 1 группу.

Вирулентность штаммов UPEC для личинок *G. mellonella*

На основании значений ЛД₅₀ для личинок *G. mellonella* исследуемые штаммы разделены на 2 категории вирулентности: высоковирулентные штаммы с ЛД₅₀ < 10⁶ КОЕ ($n = 13$) и слабовирулентные с ЛД₅₀ > 10⁶ КОЕ ($n = 7$), как описано в работе [15]. Показано, что все штаммы в дозе более $1,0 \times 10^8$ КОЕ/особь вызывали гибель 100% личинок на 7-е сутки после заражения. При этом ~10% личинок погибали при заражении высоковирулентными штаммами в дозе 10⁴ КОЕ/особь и слабовирулентными штаммами в дозе 10⁶ КОЕ/особь. При заражающей дозе 10⁶ КОЕ/особь выявлялись наибольшие различия в уровнях вирулентности штаммов двух категорий: высоковирулентные штаммы в этой дозе вызывали гибель ~90% личинок, а слабовирулентные — ~10% личинок. На этом основании доза заражения личинок 10⁶ КОЕ/особь использована для дифференциации изучаемых штаммов *E. coli* по вирулентности (рис. 1). Доказана статистическая достоверность дифференциации штаммов на высоковирулентные и слабовирулентные для личинок *G. mellonella* в интервале доз заражения 10⁵–10⁷ КОЕ/особь при коэффициенте $p < 0,01$.

О-групповая принадлежность, филогенетические группы и сиквенс-типы штаммов UPEC

В ходе исследования идентифицированы 10 О-групп *E. coli*: O25 ($n = 3$), O2 ($n = 2$), O11 ($n = 2$), O18 ($n = 2$), O4 ($n = 1$), O6 ($n = 1$), O9 ($n = 1$), O15 ($n = 1$), O75 ($n = 1$) и O89 ($n = 1$). Для 5 штаммов О-группы не идентифицированы с помощью использованного метода типирования. Определена принадлежность штаммов к филогруппам А ($n = 4$), В1 ($n = 3$), В2 ($n = 10$), Е ($n = 1$) и F ($n = 2$). Идентифицированы 14 ранее известных сиквенс-типов *E. coli*: ST14 ($n = 1$), ST58 ($n = 1$), ST69 ($n = 1$), ST-73 ($n = 1$), ST93 ($n = 1$), ST127 ($n = 1$), ST131 ($n = 3$), ST141 ($n = 2$), ST165 ($n = 1$), ST297 ($n = 1$), ST457 ($n = 2$), ST537 ($n = 1$), ST744 ($n = 1$) и ST1434 ($n = 1$), а также два новых, ранее не описанных сиквенс-типа ST10102 и ST9239 (табл. 2).

К филогруппе А отнесены штаммы О-групп O18, O89; к филогруппе В1 — O9; к филогруппе В2 — O2, O4, O6, O18, O25, O75; к филогруппе Е — O15; к филогруппе F — O11 О-групп. Показано, что 3 штамма O25-группы принадлежат к сиквенс-типу ST131, 2 штамма O11-группы — к сиквенс-типу ST457, два штамма O2-группы — к сиквенс-типу ST141. Два штамма O18-группы отнесены к разным сиквенс-типам (ST14 и ST1434) и разным филогруппам (В2 и А; табл. 2).

Стоит отметить, что серогруппы O4, O6, O9, O11, O75 и O89 в данном исследовании идентифицированы только у высоковирулентных штаммов, а серогруппы O15 и O25 — только у слабовирулентных. Две серогруппы — O2 и O18 — были идентифицированы в группе как высоковирулентных, так и слабовирулентных штаммов. Филогруппы А, В1 и F определены только у высоковирулентных штаммов, в то время как филогруппа В2 — в обеих группах вирулентности. Среди 13 высоковирулентных

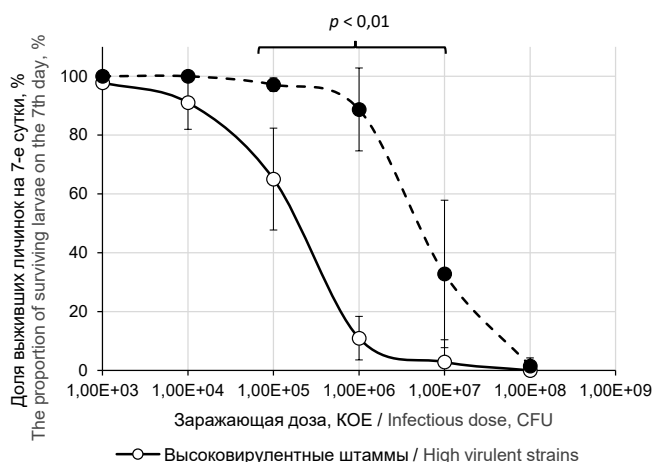


Рис. 1. Анализ вирулентности штаммов *E. coli* на модели личинок *G. mellonella*.

Fig. 1. Analysis of the virulence *E. coli* strains in the *G. mellonella* larvae model.

Таблица 2. Генетические детерминанты вирулентности, вирулентность для личинок *G. mellonella*, O-групповая принадлежность, филогенетические группы и сиквенс-типы изучаемых штаммов UPEC

Table 2. Genetic virulence determinants, virulence for larvae of *G. mellonella*, O-group affiliation, phylogenetic groups and sequence types of UPEC strains

Штамм <i>E. coli</i> <i>E. coli</i> strain	Детектируемые гены факторов вирулентности / Detectable genes of virulence factors										ЛД ₅₀ , КОЕ LD ₅₀ , CFU	ОГ OG	ФГ PhG	СТ ST
	адгезины adhesins	сидерофоры siderophores	противодействие иммунитету anti-immunity	транспортер капсулы capsule transporter	токсины toxins	колицин kolitsin	остров патогенности island pathogenicity							
U18	fimH, csgA	fyuA	traT	kpsMTII	–	–	IV ₅₃₆	0,4 × 10 ⁵	NI	A	ST-93			
U10	fimH, csgA	iutA	ompT, traT	kpsMTII	–	–	–	0,9 × 10 ⁵	O11	F	ST457			
U22	fimH, csgA	iutA	ompT, traT	kpsMTII	–	–	–	1,0 × 10 ⁵	O11	F	ST457			
U8	fimH, csgA	fyuA	ompT, traT	–	–	–	IV ₅₃₆	0,2 × 10 ⁶	NI	B1	ST297			
U9	fimH, focG, papGIII, csgA	iroN, fyuA	ompT	kpsMTII	cnf1, hlyA, usp	–	IV ₅₃₆ , II _{CF1073} , I ₅₃₆ , II _{J96}	0,2 × 10 ⁶	O75	B2	ST537			
U15	fimH, sfaS, focG, papGIII, csgA	iroN, fyuA	ompT, traT	kpsMTII	cnf1, hlyA, usp	–	IV ₅₃₆ , II _{CF1073} , I ₅₃₆ , II _{J96}	0,3 × 10 ⁶	O2	B2	ST141			
U14	fimH, csgA	iroN, iutA, fyuA	ompT, traT	–	–	–	IV ₅₃₆	0,3 × 10 ⁶	O9	B1	ST58			
U24	fimH, csgA	–	–	–	–	–	–	0,3 × 10 ⁶	O89	A	ST744			
U13	fimH, csgA	iroN, fyuA	ompT, traT	–	–	–	IV ₅₃₆	0,4 × 10 ⁶	NI	A	ST165			
U17	fimH, focG, papGII, csgA	iroN, iutA, fyuA	ompT	kpsMTII	hlyA, usp	–	IV ₅₃₆ , II _{CF1073} , II ₅₃₆	0,5 × 10 ⁶	O6	B2	ST73			
U23	fimH, sfaS, papGIII, csgA	iroN, fyuA	ompT	kpsMTII	cnf1, hlyA, usp	–	IV ₅₃₆ , II ₅₃₆ , II _{CF1073} , I ₅₃₆ , II ₅₃₆ , II _{J96}	0,6 × 10 ⁶	O4	B2	ST127			
U26	fimH, csgA	iroN, iutA	–	–	–	–	–	0,6 × 10 ⁶	NI	B1	ST9239*			
U25	fimH, csgA	–	–	–	–	–	–	0,7 × 10 ⁶	O18	A	ST1434			
U11	fimH, papGII, csgA	iutA, fyuA	ompT	kpsMTII	usp	–	IV ₅₃₆ , II _{CF1073}	0,2 × 10 ⁷	O25	B2	ST131			
U12	fimH, papGII, csgA	iutA, fyuA	ompT, traT	kpsMTII	cnf1, hlyA, usp	–	IV ₅₃₆ , II _{CF1073} , I ₅₃₆ , II ₅₃₆ , II _{J96}	0,8 × 10 ⁷	O25	B2	ST131			
U20	fimH, papGII, csgA	iroN, iutA, fyuA	ompT, traT	kpsMTII	hlyA, usp	–	IV ₅₃₆ , II _{CF1073} , II ₅₃₆	0,9 × 10 ⁷	O18	B2	ST14			
U28	fimH, csgA	iutA, fyuA	ompT, traT	kpsMTII	usp	–	IV ₅₃₆ , II _{CF1073}	1,0 × 10 ⁷	O25	B2	ST131			
U16	fimH, csgA	iroN, fyuA	ompT, traT	kpsMTII	–	–	IV ₅₃₆	0,2 × 10 ⁸	O15	E	ST69			
U19	fimH, csgA	iroN, fyuA	ompT	–	–	–	IV ₅₃₆	0,2 × 10 ⁸	NI	B2	ST10102*			
U21	fimH, sfaS, focG, papGIII, csgA	iroN, fyuA	ompT	kpsMTII	cnf1, hlyA, usp	–	IV ₅₃₆ , II _{CF1073} , I ₅₃₆ , II _{J96}	0,7 × 10 ⁸	O2	B2	ST141			

Примечание. ОГ — O-группа; ФГ — филогенетическая группа; СТ — сиквенс-тип; NI — не определяется использованным методом; «-» — отсутствие гена; жирным шрифтом выделены значения ЛД₅₀ высоковирулентных штаммов; * — ST идентифицирован в данном исследовании.
Note. OG — O-group; PhG — phylogenetic group; ST — sequence type; NI — not determined by the method used, “-” — the absence of a gene; LD₅₀ values of highly virulent strains are highlighted in bold; * — ST identified in this study.

для личинок *G. mellonella* штаммов *E. coli* определены 12 сиквенс-типов, среди 7 слабовирулентных штаммов — 5 сиквенс-типов, сиквенс-тип ST141 был идентифицирован как у 1 высоковирулентного, так и у 1 слабовирулентного штамма (табл. 2).

Филогенетическое дерево

Анализ филогенетического родства сиквенс-типов штаммов UPEC выявил два кластера: кластер I, включающий ST457; и кластер II, объединяющий все остальные сиквенс-типы. Кластер II состоит из двух подкластеров: IIa (ST69) и IIb, который включает в себя две подгруппы: IIb-1 (ST14, ST73, ST127, ST131, ST141, ST537 и ST10102) и IIb-2 (ST58, ST93, ST165, ST297, ST744, ST1434 и ST9239). Расположение изученных штаммов UPEC на филогенетическом дереве сиквенс-типов полностью совпадает с принадлежностью штаммов к филогенетическим группам: в кластер I входят штаммы группы F, в подкластер IIa — E, в подкластер IIb-1 — B2 и в подкластер IIb-2 — A и B1. В кластер I и подгруппу IIb-2 вошли только высоковирулентные для личинок *G. mellonella* штаммы, в подкластер IIa — один слабовирулентный штамм, в подгруппу IIb-1 — как высоковирулентные, так и слабовирулентные штаммы. Новые сиквенс-типы ST9239 (IIb-1) и ST10102 (IIb-2) филогенетически наиболее близки к сиквенс-типам ST297 и ST73 соответственно (рис. 2).

Интересно отметить, что только штаммы UPEC, относящиеся к филогруппе B2, серогруппам O2, O4, O6, O18, O25, O75 и подгруппе IIb-1 филогенетического дерева, несли гены адгезинов *papGII*, *papGIII*, *sfaS* и *focG*, гены токсинов *hlyA*, *cnfI*, *usp*

и острова патогенности III₅₃₆, II_{CFT073}, I₅₃₆, II₅₃₆, II_{J96} (табл. 2).

Анализ полных геномов штаммов UPEC

Проанализированы 9 полногеномных последовательностей штаммов UPEC, которые характеризовались размерами 4,5–5,4 млн п.н. и ГЦ-составом 51–52%, несущих 4,3–5,2 тыс. генов (табл. 3). В геномах 7 штаммов выявлены генетические детерминанты, определяющие устойчивость к 10 функциональным классам АМП (β-лактамам, аминогликозидам, фениколам, фторхинолонам, полимиксином, сульфаниламидам, тетрациклином, макролидам, фосфомицином и четвертичным аммониевым соединениям). Кроме того, у 8 штаммов идентифицированы гены белка MdfA, обеспечивающего чрезвычайно широкий спектр лекарственной устойчивости (табл. 4). Спектр выявленных генетических детерминант антибиотикорезистентности коррелировал с описанными выше фенотипами устойчивости штаммов к АМП: наличие генов β-лактамаз — с устойчивостью к β-лактамам, генов аминогликозид-модифицирующих ферментов — с устойчивостью к аминогликозидам, гена *mcr* — с устойчивостью к колистину, мутаций в генах *gyrA* — с устойчивостью к фторхинолонам.

В геномах изучаемых штаммов обнаружены гены, кодирующие группы факторов вирулентности: адгезинов, сидерофоров, противодействия иммунитету макроорганизма, капсулообразования, токсинов, бактериоцинов и др. Отмечено значительное разнообразие геномов по количеству идентифицированных генов вирулентности — от 1 до 35. В геномах штаммов были выявлены до 6 генов адге-

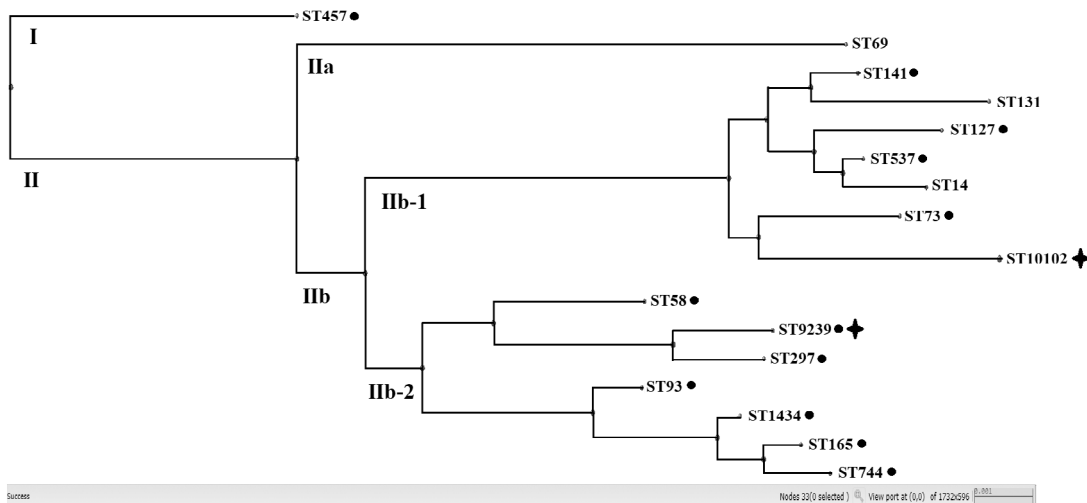


Рис. 2. Филогенетическое дерево штаммов UPEC, построенное на основании искусственно собранных нуклеотидных последовательностей генов МЛСТ-профиля.

Точкой обозначены сиквенс-типы высоковирулентных штаммов, звездочкой — новые сиквенс-типы.

Fig. 2. Phylogenetic tree of UPEC strains, built on the basis of artificially assembled nucleotide sequences of MLST-profile genes.

The point denotes the sequence types of highly virulent strains, the asterisk — new sequence types.

Таблица 3. Характеристика полных геномов штаммов UPEC
Table 3. Characterization of the whole genome sequences of UPEC strains

Штамм Strain	Код штамма Strain ID	Код доступа SRA SRA accession	Код доступа GenBank GenBank accession	ГЦ-состав, % GC-content, %	Размер генома, п. н. Genome size, bp	Количество контигов Number of contigs	N50	L50	Количество генов Number of genes
U10	SCPM-O-B-8551	SRR8517671	SERS010000000	51,7	5003875	143	164113	9	4702
U12	SCPM-O-B-8430	SRR8517670	SERT010000000	51,4	5222884	140	222568	7	5014
U14	SCPM-O-B-8552	SRR8517669	SERU000000000	51,4	4979967	155	155426	11	4692
U15	SCPM-O-B-8431	SRR8517668	SERV000000000	51,5	5391052	178	266427	8	5206
U19	SCPM-O-B-8724	SRR12512406	JACSYM000000000	52,0	4730654	236	36661	41	4402
U22	SCPM-O-B-8553	SRR8517667	SERW010000000	51,6	5015557	112	270519	7	4694
U24	SCPM-O-B-8432	SRR8517666	SERX000000000	51,1	4550637	130	113832	12	4255
U26	SCPM-O-B-8768	SRR12512405	JACSYL000000000	51,5	4912144	163	106301	15	4639
U28	SCPM-O-B-8433	SRR8517665	SERY000000000	51,3	5117977	128	222568	9	4912

Примечание. «SCPM-O-B» — State Collection of Pathogenic Microbes — Obolensk — Bacteria (Государственная коллекция патогенных микроорганизмов — Оболensk — Бактерии).
Note. «SCPM-O-B» — State Collection of Pathogenic Microbes — Obolensk — Bacteria.

Таблица 4. Генетические детерминанты устойчивости к АМП, идентифицированные в полных геномах штаммов UPEC
Table 4. Genetic determinants of antibacterial drug resistance identified in the complete genomes of UPEC strains

Штамм Strain	BL	AMI	QNL	POL	SUL	TET	MKL	FOS	MDR	QAC
U10	<i>bla</i> _{TEM-1B'}	<i>aac</i> (3)-IIa, <i>aph</i> (3')-Ia, <i>aadA</i> 1, <i>aph</i> (6)-Id, <i>aph</i> (3')-Ib	<i>catA</i> 2, <i>floR</i> , <i>gyrA</i>	<i>mcr</i> -1.1	<i>sul</i> 2, <i>dfrA</i> 14	<i>tet</i> (A)	—	—	<i>mdf</i> (A)	—
U12	<i>bla</i> _{OXA-17}	<i>aac</i> (6')-Ib-cr, <i>aac</i> (3)-IIa	<i>catB</i> 3, <i>catB</i> 3, <i>gyrA</i>	—	—	<i>tet</i> (A)	—	—	<i>mdf</i> (A)	—
U14	<i>bla</i> _{TEM-1B}	<i>aph</i> (3')-Ib, <i>aph</i> (6)-Id	—	—	<i>sul</i> 2, <i>dfrA</i> 5	—	—	—	<i>mdf</i> (A)	—
U15	—	—	—	—	—	—	—	—	<i>mdf</i> (A)	—
U19	—	—	—	—	—	—	—	—	<i>mdf</i> (A)	—
U22	<i>bla</i> _{TEM-1B'}	<i>aac</i> (3)-IIa, <i>aph</i> (3')-Ia, <i>aadA</i> 1, <i>aph</i> (6)-Id, <i>aph</i> (3')-Ib	<i>catA</i> 2, <i>floR</i> , <i>gyrA</i>	<i>mcr</i> -1.1	<i>sul</i> 2, <i>dfrA</i> 14	<i>tet</i> (A)	—	—	<i>mdf</i> (A)	—
U24	<i>bla</i> _{TEM-1B}	<i>aph</i> (6)-Id, <i>aph</i> (3')-Ib, <i>aadA</i> 5, <i>aph</i> (3')-Ia	<i>gyrA</i>	—	<i>sul</i> 1, <i>sul</i> 2, <i>dfrA</i> 17	<i>tet</i> (B)	<i>mph</i> (A)	—	<i>mdf</i> (A)	<i>qacE</i>
U26	<i>bla</i> _{CTX-M-27}	<i>aph</i> (3')-Ib, <i>aph</i> (3')-Ia, <i>aph</i> (6)-Id	<i>catA</i> 1, <i>gyrA</i>	—	<i>sul</i> 2, <i>dfrA</i> 17	<i>tet</i> (B)	—	<i>fosA</i> 7	—	—
U28	<i>bla</i> _{CTX-M-14'}	<i>aac</i> (6')-Ib3, <i>aac</i> (6')-Ib-cr, <i>aadA</i> 5	<i>cmiA</i> 1, <i>catA</i> 1, <i>gyrA</i>	—	<i>sul</i> 1, <i>dfrA</i> 17	—	<i>mph</i> (A)	—	<i>mdf</i> (A)	<i>qacE</i>

Примечание. BL — β-лактамы; AMI — аминогликозиды; QNL — хинолоны; POL — полимиксины; SUL — сульфаниламиды; TET — тетрациклины; MKL — макролиды; FOS — фосфомицины; MDR — транспортёр, обеспечивающий множественную лекарственную устойчивость; QAC — четвертичные аммониевые соединения.
Note. BL — beta-lactams; AMI — aminoglycosides; QNL — quinolones; POL — polymyxins; SUL — sulfonamides; TET — tetracyclines; MKL — macrolides; FOS — fosfomycins; MDR — transporter providing multiple drug resistance; QAC — quaternary ammonium compounds.

зинов, до 6 генов сидерофоров, до 4 генов факторов противодействия иммунитету организма-хозяина, до 3 генов капсулообразования, до 5 генов токсинов, до 8 генов бактериоцинов и 1–5 генов других факторов вирулентности (табл. 5).

Обсуждение

Объектом данного исследования являлись штаммы уropатогенных *E. coli* — ведущего возбудителя ИМП как в России, так и во всём мире [2, 3]. Показано, что около половины охарактеризованных нами штаммов UPEC относятся к категории множественно резистентных, устойчивы к АМП 3 и более функциональных классов (β -лактамам, фторхинолонам, нитрофуранам, аминогликозидам, полимиксином), что согласуется с ранее опубликованными данными [3]. Поскольку все штаммы в нашем исследовании были чувствительны к фосфомицину, нитрофурантоину и меропенему, данные АМП могут рассматриваться в качестве препаратов выбора в клинической практике, что согласуется с данными, полученными для России [3].

Фенотипы множественной лекарственной устойчивости коррелировали с наличием генетических детерминант антибиотикорезистентности: генов β -лактамаз *bla*_{TEM}, *bla*_{CTX-M} и *bla*_{OXA} типов, генов аминогликозид-модифицирующих ферментов *aac*, *aph* и *aad* типов, гена колистин-модифицирующего фермента *mcr*, мутаций в гене ДНК-гиразы *gyrA*, обеспечивающих устойчивость к β -лактамам, аминогликозидам, колистину и фторхинолонам соответственно. Аналогичные гены были выявлены в штаммах UPEC в работе [6]. Обращает на себя внимание разнообразие идентифицированных аллелей эпидемически значимого гена БЛРС *bla*_{CTX-M} — 14, 15, 27 и 55, обнаруженных в трети изученных штаммов за достаточно короткий промежуток времени исследования у небольшой группы пациентов с внегоспитальными инфекциями. Это согласуется с большим разнообразием аллелей гена *bla*_{CTX-M} описанным в исследовании европейских авторов для госпитальных и внегоспитальных штаммов UPEC [26], а также с увеличением доли БЛРС-продуцирующих штаммов UPEC в России [3]. Необходимо подчеркнуть, что в 2 штаммах идентифицирован ген устойчивости к антибиотикам резерва колистину *mcr-1*.

В геномах изучаемых штаммов UPEC выявлено большое количество и разноо-

Таблица 5. Генетические детерминанты вирулентности, идентифицированные в полных геномах штаммов UPEC
Table 5. Genetic determinants of virulence identified in the complete genomes of UPEC strains

Штамм <i>E. coli</i> <i>E. coli</i> strain	Адгезины, инвазины, агглютинины и фимбрии Adhesins, invasins, agglutinins and fimbriae	Сидерофоры Siderophores	Противодействие иммунитету Anti-immunity	Капсула и липополисахарид Capsule and lipopolysaccharide	Токсины Toxins	Бактериоцины Bacteriocins	Другие Others
U10	<i>iha</i> , <i>lpfA</i> , <i>yfcV</i>	<i>chuA</i> , <i>iucC</i> , <i>iutA</i> , <i>sitA</i>	<i>air</i> , <i>iss</i> , <i>ompT</i> , <i>traT</i>	<i>kpsE</i> , <i>kpsMII</i> , <i>wzx</i> ₀₁₁ [*] , <i>wzy</i> ₀₁₁	<i>hlyF</i>	<i>сma</i> , <i>сvaC</i>	<i>eilA</i> , <i>gad</i> , <i>terC</i>
U14	<i>lpfA</i> , <i>hra</i>	<i>iucC</i> , <i>iutA</i> , <i>sitA</i> , <i>fyuA</i> , <i>iroN</i> , <i>irp2</i>	<i>iss</i> , <i>ompT</i> , <i>traT</i>	<i>wzm</i> ₀₉ [*] , <i>wzt</i> ₀₉	<i>hlyF</i>	<i>cia</i> , <i>сvaC</i> , <i>mchF</i>	<i>gad</i> , <i>terC</i> , <i>etsC</i>
U15	<i>yfcV</i> , <i>hra</i> , <i>focC</i> , <i>papA_F12</i> , <i>papC</i> , <i>sfaD</i>	<i>chuA</i> , <i>sitA</i> , <i>fyuA</i> , <i>ireA</i> , <i>irp2</i>	<i>iss</i> , <i>ompT</i> , <i>traT</i>	<i>kpsE</i> , <i>kpsMII_K1</i> , <i>neuC</i> , <i>wzx</i> ₀₂ [*] , <i>wzy</i> ₀₂	<i>hlyF</i> , <i>cnf1</i> , <i>usp</i> , <i>vat</i> , <i>astA</i>	<i>сea</i> , <i>сelB</i> , <i>сma</i> , <i>сvaC</i> , <i>mchB</i> , <i>mchC</i> , <i>mchF</i> , <i>mсma</i>	<i>gad</i> , <i>terC</i> , <i>clbB</i> , <i>epeA</i> , <i>tcpC</i>
U22	<i>iha</i> , <i>lpfA</i> , <i>yfcV</i>	<i>chuA</i> , <i>iucC</i> , <i>iutA</i> , <i>sitA</i>	<i>air</i> , <i>iss</i> , <i>ompT</i> , <i>traT</i>	<i>kpsE</i> , <i>kpsMII</i> , <i>wzx</i> ₀₁₁ [*] , <i>wzy</i> ₀₁₁	<i>hlyF</i>	<i>сma</i> , <i>сvaC</i>	<i>eilA</i> , <i>gad</i> , <i>terC</i>
U24	—	—	—	<i>wzm</i> ₀₈₉ [*] , <i>wzt</i> ₀₈₉	—	—	<i>terC</i>
U26	<i>lpfA</i>	<i>iucC</i> , <i>iutA</i> , <i>sitA</i> , <i>iroN</i>	<i>iss</i> , <i>ompT</i> , <i>traT</i>	—	<i>hlyF</i>	—	<i>terC</i> , <i>etsC</i>
U12	<i>iha</i> , <i>yfcV</i> , <i>hra</i> , <i>papA_F43</i> , <i>papC</i>	<i>chuA</i> , <i>sitA</i> , <i>fyuA</i> , <i>irp2</i> , <i>iucC</i>	<i>iss</i> , <i>ompT</i> , <i>traT</i>	<i>kpsE</i> , <i>kpsMII_K5</i> , <i>wzx</i> ₀₂₅ [*] , <i>wzy</i> ₀₂₅	<i>cnf1</i> , <i>sat</i> , <i>usp</i>	—	<i>gad</i> , <i>terC</i>
U19	<i>yfcV</i> , <i>afaD</i> , <i>ibeA</i> , <i>papC</i>	<i>chuA</i> , <i>sitA</i> , <i>fyuA</i> , <i>iroN</i> , <i>irp2</i>	<i>iss</i> , <i>ompT</i> , <i>traT</i>	—	<i>hlyF</i> , <i>vat</i>	<i>cia</i>	<i>gad</i> , <i>terC</i> , <i>etsC</i>
U28	<i>iha</i> , <i>yfcV</i> , <i>papA_F43</i>	<i>chuA</i> , <i>iucC</i> , <i>iutA</i> , <i>sitA</i> , <i>fyuA</i> , <i>irp2</i>	<i>iss</i> , <i>ompT</i> , <i>traT</i>	<i>kpsE</i> , <i>kpsMII_K5</i> , <i>wzx</i> ₀₂₅ [*] , <i>wzy</i> ₀₂₅	<i>sat</i> , <i>usp</i> , <i>senB</i>	<i>cia</i>	<i>terC</i>

Примечание. *astA* — ген термостабильного токсина EAST-1; *sat* — ген секретируемого токсин-автотранспортера; *senB* — плазмидный ген энтерооксина; *air* — ген энтероагрегативно-иммуноглобулина; *ireA* — ген рецептора сидерофора; *eilA* — ген транскрипционного регулятора острова патогенности; *gad* — ген декарбоксилазы; *etsC* — ген белка секреции типа I; *clbB* — ген поликетидметилтрансферазы; *epeA* — ген автотранспортера; *terC* — ген белка резистентности к ионам теллурита; *tcpC* — ген белка, содержащего Tir-домен.
Note. *astA* — gene of thermostable toxin EAST-1; *sat* — gene of the secreted toxin-vehicle; *senB* — enterotoxin plasmid gene; *air* — gene of enteroaggregative immunoglobulin; *ireA* — siderophore receptor gene; *eilA* — gene for the transcriptional regulator of the island of pathogenicity; *gad* — decarboxylase gene; *etsC* — type I secretion protein gene; *clbB* — polyketide megasynthase gene; *epeA* — vehicle transporter gene; *terC* — gene for the protein of resistance to tellurium ions; *tcpC* — gene for a protein containing a Tir domain.

бразии генетических детерминант вирулентности. Все штаммы имели гены *fimH* и *csaA*, что аналогично данным, описанным в работах других авторов [8, 27]. Ген *afa/draBC* в изученных нами штаммах *E. coli* не обнаружен, в то время как в работе [27] встречаемость данного гена составляла 15%. В нашем исследовании представленность генов *fyuA*, *iroN* и *iutA* составляла 83, 50 и 45%, что принципиально не отличается от данных других авторов: 78, 36–68 и 67% соответственно [8, 27]. Интересно отметить, что гены рецепторов сидерофоров в нашем исследовании чаще встречались в сочетаниях, чем индивидуально: *fyuA* + *iroN* ($n = 6$), *fyuA* + *iutA* ($n = 3$) и *fyuA* + *iroN* + *iutA* ($n = 3$). Гены факторов противодействия иммунитету макроорганизма *ompT* и *traT* были выявлены у большинства штаммов нашего исследования (83 и 61% соответственно), что аналогично другим данным — 75 и 71% соответственно [27]. Наличие генов *focG* и *sfaS* и оперона *pap* в нашем исследовании отмечено у 22, 17 и 44% изучаемых штаммов соответственно, что аналогично данным [8], но отличается от данных в других исследованиях — 50, 26 и 80% соответственно [27]. Ген *hlyA* в нашем исследовании идентифицирован у 39% штаммов, что примерно соответствует уровню встречаемости (42%) этого гена в исследовании российских авторов [8], но ниже, чем в работе [27] — 76%. Ген *cnfI* в нашем исследовании встречался у 28% штаммов, а в работе [27] — у 83% штаммов. Таким образом, в нашем исследовании у подавляющего большинства штаммов присутствовали гены адгезинов, сидерофоров и факторов противодействия иммунной системе.

Фенотипическое проявление вирулентности исследуемых штаммов UPEC изучали на модели личинок *G. mellonella*, которая широко используется для характеристики бактериальных уропатогенов [15, 16]. Показано, что множественно резистентным фенотипом обладали 6 высоковирулентных штаммов из 13, что указывает на вовлечённость в процесс объединения потенциалов вирулентности и антибиотикорезистентности UPEC.

Профили генов вирулентности, выявленные в нашей работе в полных геномах штаммов UPEC, различались у высоко- и слабовирулентных штаммов. Гены *lpfA*, *papA_F12*, *focC*, *sfaD*, *ireA*, *air*, *neuC*, *kpsMII_K1*, *astA*, *cta*, *cvaC*, *cea*, *celb*, *mchB*, *mchC*, *mchF*, *mcmA*, *eilA*, *tcpC* и *epeA* встречались только в геномах высоковирулентных штаммов, а гены *papA_F43*, *afaD*, *ibeA*, *kpsMII_K5*, *sat*, *senB* — только в геномах слабовирулентных штаммов.

Важно отметить, что исследованные в нашей работе внегоспитальные штаммы UPEC, как и во всем мире, характеризуются высокой степенью генетической гетерогенности: идентифицированы 3 филогенетические группы, 10 O-групп и 16 сиквенс-типов. По данным литературы, выявлен-

ные нами серогруппы O2, O6, O15, O25 и O75 относятся к числу часто встречающихся у UPEC [10, 13, 14]. Это согласуется также с тем, что в базе данных Enterobase⁷ на 20.09.2020 серогруппы O2, O4, O6, O18, O25 и O75 были представлены более чем 10 штаммами UPEC каждая, а серогруппы O9, O11, O15 и O89 — менее чем 10 штаммами каждая. Стоит отметить, что штаммы серогруппы O6 охарактеризованы как высоковирулентные для личинок *G. mellonella* и в нашем исследовании, и в работе [15]. В то же время штаммы O15- и O25-групп были отнесены нами к слабовирулентным для личинок *G. mellonella*, а штаммы O2- и O18-групп — и к высоковирулентным, и к слабовирулентным штаммам, что не совпадает с результатами исследования [15].

Показано, что штаммы 11 сиквенс-типов, в том числе нового ST-9239, принадлежат к категории высоковирулентных, а 4 сиквенс-типов, в том числе нового ST-10102, — к категории слабовирулентных. Сиквенс-тип ST-131, описанный в нашей работе, характерен для штаммов UPEC во всём мире (65 упоминаний среди UPEC в базе данных Enterobase на 20.09.2020). Другие характерные для UPEC сиквенс-типы ST69, ST73, ST127, ST14, ST58, ST93, ST141, ST457, ST537 и ST297, описанные в нашем исследовании, также представлены в базе данных Enterobase (от 1 до 106 упоминаний среди UPEC на 20.09.2020). В нашей работе впервые описаны штаммы *E. coli* сиквенс-типов ST165, ST744 и ST1434, выделенные от человека с ИМП; ранее эти сиквенс-типы были ассоциированы с другими патогруппами *E. coli* (согласно базе данных Enterobase на 20.09.2020). В нашем исследовании штаммы *E. coli* ST131 обладали слабой вирулентностью для личинок *G. mellonella*, что совпадает с результатами [15]. Интересно, что все штаммы этого сиквенс-типа в нашем исследовании принадлежали к серогруппе O25, а в упомянутой работе — не только к серогруппе O25, но и к другим серогруппам [15].

Высоко- и слабовирулентные штаммы UPEC подгруппы Пв-1 филогенетического дерева, относящиеся к характерным для UPEC филогруппе B2 и серогруппам O2, O4, O6, O18, O25 и O75, несли ген *usp*, кодирующий токсин — уропатогенный специфический белок Usp, что согласуется с опубликованными ранее данными о наличии ассоциации гена *usp* с сиквенс-типами ST131, ST69, ST73 и ST141 [9].

Полученные нами данные о принадлежности штаммов UPEC ST73 серогруппы O6 и ST127 серогруппы O4 к группе высоковирулентных для личинок *G. mellonella* аналогичны описанным в литературе [15]. В то же время штамм UPEC серогруппы O15 сиквенс-типа ST69 в нашем исследовании отнесён к слабовирулентным, а в работе [15] — к высоковирулентным UPEC. Особое внимание об-

⁷ URL: <http://enterobase.warwick.ac.uk/species/index/ecoli>

ращают на себя два высоковирулентных для личинок *G. mellonella* штамма *E. coli* (O11, ST457), которые характеризовались устойчивостью к резервному антибиотику колистину и несли ген *mcr-1*. Ранее *mcr-1*-позитивные штаммы UPEC такого же сиквенс-типа были описаны в Китае [28]. В России этот ген был детектирован ранее в штаммах *E. coli* сиквенс-типов ST156 и ST359 [29].

Заключение

Описано генетическое разнообразие изученных внегоспитальных штаммов UPEC, относящихся к 3 филогенетическим группам, 10 O-группам и 16 сиквенс-типам и несущих разные наборы генетических детерминант факторов патогенности и антибиотикорезистентности. Все штаммы отнесены к категории резистентных, у половины из них определена множественная лекарственная устойчивость, обусловленная наличием генов устойчивости к β-лактамам, фторхинолонам, аминогликозидам и др., что согласуется с общемировой тенденцией распространения антибиотикорезистентности среди внегоспитальных патогенов. Идентифицированы две группы штаммов UPEC по степени вирулентности на модели личинок *G. mellonella* — высоковирулентные и слабовирулентные, геномы которых существенно отличались по наличию наборов генов адгезинов, сидерофоров, токсинов, факторов противодействия иммунитету макроорганизма, капсулообразования и островов патогенности. Описаны штаммы UPEC, характеризующиеся одновременно высокой вирулентностью и множественной лекарственной устойчивостью во внегоспитальной среде. Дальнейшее накопление данных позволит оценить эпидемиологическую ситуацию по ИМП, дать прогноз её развития в будущем, а также определить оптимальные направления терапии.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

- Öztürk R., Murt A. Epidemiology of urological infections: a global burden. *World J. Urol.* 2020; 38: 2669–79. <https://doi.org/10.1007/s00345-019-03071-4>
- Javed S., Mirani Z.A., Pirzada Z.A. Phylogenetic group B2 expressed significant biofilm formation among drug resistant uropathogenic *Escherichia coli*. *Libyan. J. Med.* 2021; 16(1): 1845444. <https://doi.org/10.1080/19932820.2020.1845444>
- Палагин И.С., Сухорукова М.В., Дехнич А.В., Эйдельштейн М.В., Перепанова Т.С., Козлов Р.С. Антибиотикорезистентность возбудителей внебольничных инфекций мочевых путей в России: результаты многоцентрового исследования «ДАРМИС-2018». *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия.* 2019; 21(2): 134–46. <https://doi.org/10.36488/cmac.2019.2.134-146>
- Medina M., Castillo-Pino E. An introduction to the epidemiology and burden of urinary tract infections. *Ther. Adv. Urol.* 2019; 11: 1756287219832172. <https://doi.org/10.1177/1756287219832172>
- Zhong Z.X., Cui Z.H., Li X.J., Tang T., Zheng Z.J., Ni W.N., et al. Nitrofurantoin combined with amikacin: a promising alternative strategy for combating MDR uropathogenic *Escherichia coli*. *Front. Cell Infect. Microbiol.* 2020; 10: 608547. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2020.608547>
- Naziri Z., Derakhshandeh A., Soltani Borcholeee A., Poor-maleknia M., Azimzadeh N. Treatment failure in urinary tract infections: A warning witness for virulent multi-drug resistant ESBL-producing *Escherichia coli*. *Infect. Drug Resist.* 2020; 13: 1839–50. <https://doi.org/10.2147/IDR.S256131>
- Sun D.H., Lv D.F., Mi Z.H., Hu L.Q., Huang Y., Gao X., et al. Investigation of antibiotic resistance determinants and virulence factors of uropathogenic *Escherichia coli*. *J. Antibiot. (Tokyo).* 2020; 73(5): 314–9. <https://doi.org/10.1038/s41429-020-0284-7>
- Казанцев А.В., Осина Н.А., Глинская Т.О., Кошелева О.Н., Максимов Ю.В., Девдариани З.Л. и др. Факторы вирулентности и филогенетическая характеристика уропатогенных штаммов *Escherichia coli*, выделенных на территории г. Саратова. *Проблемы особо опасных инфекций.* 2019; (4): 56–60. <https://doi.org/10.21055/0370-1069-2019-4-56-60>
- Nüesch-Inderbinen M.T., Baschera M., Zurfluh K., Hächler H., Nüesch H., Stephan R. Clonal diversity, virulence potential and antimicrobial resistance of *Escherichia coli* causing community acquired urinary tract infection in Switzerland. *Front. Microbiol.* 2017; 8: 2334. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.02334>
- Noie Oskouie A., Hasani A., Ahangarzadeh Rezaee M., Soroush Bar Haghi M.H., Hasani A., Soltani E. A relationship between O-serotype, antibiotic susceptibility and biofilm formation in uropathogenic *Escherichia coli*. *Microb. Drug. Resist.* 2019; 25(6): 951–8. <https://doi.org/10.1089/mdr.2018.0330>
- Baldiris-Avila R., Montes-Robledo A., Buelvas-Montes Y. Phylogenetic classification, biofilm-forming capacity, virulence factors, and antimicrobial resistance in uropathogenic *Escherichia coli* (UPEC). *Curr. Microbiol.* 2020; 77(11): 3361–70. <https://doi.org/10.1007/s00284-020-02173-2>
- Кузнецова М.В., Проворова С.В., Кубарев О.Г., Юдин Д.П., Каримова Н.В., Баянзина Н.В. и др. Сравнительная характеристика штаммов уропатогенной *Escherichia coli*, выделенных в условиях поликлиники и стационара. *Урология.* 2018; (6): 37–44. <https://doi.org/10.18565/urology.2018.6.37-44>
- Аминова Э.М., Бахарева Л.И. Характеристика *Escherichia coli*, выделенной из мочи пациентов при различных клинических ситуациях. *Вестник Челябинского государственного университета.* 2013; (7): 51–2.
- Казанцев А.В. Определение принадлежности к O-серогруппе по результатам молекулярно-генетического анализа уропатогенных штаммов *Escherichia coli*, выделенных от пациентов, находящихся на госпитализации в урологических отделениях на территории г. Саратов, с симптомами пиелонефрита и цистита. В кн.: *Материалы всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Аспирантские чтения – 2018».* Самара; 2018.
- Alghoribi M.F., Gibreel T.M., Dodgson A.R., Beatson S.A., Upton M. *Galleria mellonella* infection model demonstrates high lethality of ST69 and ST127 uropathogenic *E. coli*. *PLoS One.* 2014; 9(7): e101547. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0101547>
- Tsai C.J., Loh J.M., Proft T. *Galleria mellonella* infection models for the study of bacterial diseases and for antimicrobial drug testing. *Virulence.* 2016; 7(3): 214–29. <https://doi.org/10.1080/21505594.2015.1135289>
- Magiorakos A.P., Srinivasan A., Carey R.B., Carmeli Y., Falagas M.E., Giske C.G., et al. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clin. Microbiol. Infect.* 2012; 18(3): 268–81. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2011.03570.x>
- Кузина Е.С., Асташкин Е.И., Лев А.И., Агеева Е.Н., Карцев Н.Н., Светоч Э.А. и др. Интегроны классов 1 и 2 в госпитальных штаммах грам-отрицательных бактерий, выделенных в Москве и регионах Российской Федерации. *Мо-*

- лекулярная генетика, микробиология и вирусология. 2019; 37(1): 17–24. <https://doi.org/10.17116/molgen20193701117>
19. Sabaté M., Moreno E., Pérez T., Andreu A., Prats G. Pathogenicity island markers in commensal and uropathogenic *Escherichia coli* isolates. *Clin. Microbiol. Infect.* 2006; 12(9): 880–6. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2006.01461.x>
20. Ашмарин И.П., Воробьев А.А. *Статистические методы в микробиологических исследованиях*. Ленинград: Наука; 1962.
21. Clermont O., Christenson J.K., Denamur E., Gordon D.M. The Clermont *Escherichia coli* phylo-typing method revisited: improvement of specificity and detection of new phylo-groups. *Environ. Microbiol. Rep.* 2013; 5(1): 58–65. <https://doi.org/10.1111/1758-2229.12019>
22. Iguchi A., Iyoda S., Seto K., Morita-Ishihara T., Scheutz F., Ohnishi M., et al. *Escherichia coli* O-genotyping PCR: a comprehensive and practical platform for molecular O serogrouping. *J. Clin. Microbiol.* 2015; 53(8): 2427–32. <https://doi.org/10.1128/JCM.00321-15>
23. Alikhan N.F., Zhou Z., Sergeant M.J., Achtman M. A genomic overview of the population structure of *Salmonella*. *PLoS Genet.* 2018; 14(4): e1007261. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1007261>
24. Bankevich A., Nurk S., Antipov D., Gurevich A.A., Dvorkin M., Kulikov A.S., et al. SPAdes: a new genome assembly algorithm and its applications to single-cell sequencing. *J. Comput. Biol.* 2012; 19(5): 455–77. <https://doi.org/10.1089/cmb.2012.0021>
25. Angiuoli S.V., Gussman A., Klimke W., Cochrane G., Field D., Garrity G., et al. Toward an online repository of Standard Operating Procedures (SOPs) for (meta)genomic annotation. *OMICs*. 2008; 12(2): 137–41. <https://doi.org/10.1089/omi.2008.0017>
26. Edowik Y., Caspari T., Williams H.M. The amino acid changes T55A, A273P and R277C in the beta-lactamase CTX-M-14 render *E. coli* resistant to the antibiotic nitrofurantoin, a first-line treatment of urinary tract infections. *Microorganisms*. 2020; 8(12): 1983. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8121983>
27. Kudinha T., Kong F., Johnson J.R., Andrew S.D., Anderson P., Gilbert G.L. Multiplex PCR-based reverse line blot assay for simultaneous detection of 22 virulence genes in uropathogenic *Escherichia coli*. *Appl. Environ. Microbiol.* 2012; 78(4): 1198–202. <https://doi.org/10.1128/AEM.06921-11>
28. Yu H., Qu F., Shan B., Huang B., Jia W., Chen C., et al. Detection of the *mcr-1* colistin resistance gene in carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* from different hospitals in China. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2016; 60(8): 5033–5. <https://doi.org/10.1128/AAC.00440-16>
29. Ageevets V., Lazareva I., Mrugova T., Gostev V., Lobzin Y., Sidorenko S. IncX4 plasmids harbouring *mcr-1* genes: further dissemination. *J. Glob. Antimicrob. Resist.* 2019; 18: 166–7. <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2019.07.002>
30. Zhong Z.X., Cui Z.H., Li X.J., Tang T., Zheng Z.J., Ni W.N., et al. Nitrofurantoin combined with amikacin: a promising alternative strategy for combating MDR uropathogenic *Escherichia coli*. *Front. Cell Infect. Microbiol.* 2020; 10: 608547. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2020.608547>
31. Naziri Z., Derakhshandeh A., Soltani Borchaloee A., Poor-maleknia M., Azimzadeh N. Treatment failure in urinary tract infections: A warning witness for virulent multi-drug resistant ESBL-producing *Escherichia coli*. *Infect. Drug Resist.* 2020; 13: 1839–50. <https://doi.org/10.2147/IDR.S256131>
32. Sun D.H., Lv D.F., Mi Z.H., Hu L.Q., Huang Y., Gao X., et al. Investigation of antibiotic resistance determinants and virulence factors of uropathogenic *Escherichia coli*. *J. Antibiot. (Tokyo)*. 2020; 73(5): 314–9. <https://doi.org/10.1038/s41429-020-0284-7>
33. Kazantsev A.V., Osina N.A., Glinskaya T.O., Kosheleva O.N., Maksimov Yu.V., Devdariani Z.L., et al. Virulence factors and phylogenetic characteristics of uropathogenic *Escherichia coli* strains isolated in Saratov. *Problemy osobo opasnykh infektsiy*. 2019; (4): 56–60. <https://doi.org/10.21055/0370-1069-2019-4-56-60> (in Russian)
34. Nüesch H., Stephan R. Clonal diversity, virulence potential and antimicrobial resistance of *Escherichia coli* causing community acquired urinary tract infection in Switzerland. *Front. Microbiol.* 2017; 8: 2334. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.02334>
35. Noie Oskouie A., Hasani A., Ahangarzadeh Rezaee M., Soroush Bar Haghi M.H., Hasani A., Soltani E. A relationship between O-serotype, antibiotic susceptibility and biofilm formation in uropathogenic *Escherichia coli*. *Microb. Drug. Resist.* 2019; 25(6): 951–8. <https://doi.org/10.1089/mdr.2018.0330>
36. Baldiris-Avila R., Montes-Robledo A., Buelvas-Montes Y. Phylogenetic classification, biofilm-forming capacity, virulence factors, and antimicrobial resistance in uropathogenic *Escherichia coli* (UPEC). *Curr. Microbiol.* 2020; 77(11): 3361–70. <https://doi.org/10.1007/s00284-020-02173-2>
37. Kuznetsova M.V., Provorova S.V., Kubarev O.G., Yudin D.P., Karimova N.V., Bayandina N.V., et al. Comparative characteristics of uropathogenic *Escherichia coli* strains, allocated in polyclinic and stationary conditions. *Urologiya*. 2018; (6): 37–44. <https://doi.org/10.18565/urology.2018.6.37-44> (in Russian)
38. Amineva E.M., Bakhareva L.I. Characteristics of *Escherichia coli* isolated from the urine of patients in various clinical situations. *Vestnik Chelyabinskogo gosudarstvennogo universiteta*. 2013; (7): 51–2. (in Russian)
39. Kazantsev A.V. Determination of belonging to the O-serogroup according to the results of molecular genetic analysis of uropathogenic strains of *Escherichia coli* isolated from patients hospitalized in urological departments in the city of Saratov with symptoms of pyelonephritis and cystitis. In: *Materials of the All-Russian Scientific-Practical Conference with International Participation «Postgraduate Readings – 2018» [Materialy vserossiyskoy nauchno-prakticheskoy konferentsii s mezhdunarodnym uchastiem «Aspirantskie chteniya – 2018»*. Samara; 2018. (in Russian)
40. Alghoribi M.F., Gibreel T.M., Dodgson A.R., Beatson S.A., Upton M. *Galleria mellonella* infection model demonstrates high lethality of ST69 and ST127 uropathogenic *E. coli*. *PLoS One*. 2014; 9(7): e101547. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0101547>
41. Tsai C.J., Loh J.M., Proft T. *Galleria mellonella* infection models for the study of bacterial diseases and for antimicrobial drug testing. *Virulence*. 2016; 7(3): 214–29. <https://doi.org/10.1080/21505594.2015.1135289>
42. Magiorakos A.P., Srinivasan A., Carey R.B., Carmeli Y., Falagas M.E., Giske C.G., et al. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired re-

REFERENCES

- sistance. *Clin. Microbiol. Infect.* 2012; 18(3): 268–81. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2011.03570.x>
18. Kuzina E.S., Astashkin E.I., Lev A.I., Ageeva E.N., Kartsev N.N., Svetoch E.A., et al. Class 1 and class 2 integrons in hospital strains of gramnegative bacteria isolated in Moscow and other regions of the Russian Federation. *Molekulyarnaya genetika, mikrobiologiya i virusologiya.* 2019; 34(1): 16–24. <https://doi.org/10.3103/S0891416819010051>
 19. Sabaté M., Moreno E., Pérez T., Andreu A., Prats G. Pathogenicity island markers in commensal and uropathogenic *Escherichia coli* isolates. *Clin. Microbiol. Infect.* 2006; 12(9): 880–6. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2006.01461.x>
 20. Ashmarin I.P., Vorob'ev A.A. *Statistical Methods in Microbiological Research [Statisticheskie metody v mikrobiologicheskikh issledovaniyakh]*. Leningrad: Nauka; 1962. (in Russian)
 21. Clermont O., Christenson J.K., Denamur E., Gordon D.M. The Clermont *Escherichia coli* phylo-typing method revisited: improvement of specificity and detection of new phylo-groups. *Environ. Microbiol. Rep.* 2013; 5(1): 58–65. <https://doi.org/10.1111/1758-2229.12019>
 22. Iguchi A., Iyoda S., Seto K., Morita-Ishihara T., Scheutz F., Ohnishi M., et al. *Escherichia coli* O-genotyping PCR: a comprehensive and practical platform for molecular O serogrouping. *J. Clin. Microbiol.* 2015; 53(8): 2427–32. <https://doi.org/10.1128/JCM.00321-15>
 23. Alikhan N.F., Zhou Z., Sergeant M.J., Achtman M. A genomic overview of the population structure of *Salmonella*. *PLoS Genet.* 2018; 14(4): e1007261. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1007261>
 24. Bankevich A., Nurk S., Antipov D., Gurevich A.A., Dvorkin M., Kulikov A.S., et al. SPAdes: a new genome assembly algorithm and its applications to single-cell sequencing. *J. Comput. Biol.* 2012; 19(5): 455–77. <https://doi.org/10.1089/cmb.2012.0021>
 25. Angiuoli S.V., Gussman A., Klimke W., Cochrane G., Field D., Garrity G., et al. Toward an online repository of Standard Operating Procedures (SOPs) for (meta)genomic annotation. *OMICS.* 2008; 12(2): 137–41. <https://doi.org/10.1089/omi.2008.0017>
 26. Edowik Y., Caspari T., Williams H.M. The amino acid changes T55A, A273P and R277C in the beta-lactamase CTX-M-14 render *E. coli* resistant to the antibiotic nitrofurantoin, a first-line treatment of urinary tract infections. *Microorganisms.* 2020; 8(12): 1983. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8121983>
 27. Kudinha T., Kong F., Johnson J.R., Andrew S.D., Anderson P., Gilbert G.L. Multiplex PCR-based reverse line blot assay for simultaneous detection of 22 virulence genes in uropathogenic *Escherichia coli*. *Appl. Environ. Microbiol.* 2012; 78(4): 1198–202. <https://doi.org/10.1128/AEM.06921-11>
 28. Yu H., Qu F., Shan B., Huang B., Jia W., Chen C., et al. Detection of the *mcr-1* colistin resistance gene in carbapenem-resistant Enterobacteriaceae from different hospitals in China. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2016; 60(8): 5033–5. <https://doi.org/10.1128/AAC.00440-16>
 29. Ageevets V., Lazareva I., Mrugova T., Gostev V., Lobzin Y., Sidorenko S. IncX4 plasmids harbouring *mcr-1* genes: further dissemination. *J. Glob. Antimicrob. Resist.* 2019; 18: 166–7. <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2019.07.002>

Информация об авторах

Слукин Павел Владимирович[✉] — н.с. лаб. антимикробных препаратов отдела молекулярной микробиологии ГНЦ прикладной микробиологии и биотехнологии, Оболенск, Россия, xopgi@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4976-0145>

Асташкин Евгений Ильич — к.м.н., в.н.с. лаб. антимикробных препаратов отдела молекулярной микробиологии ГНЦ прикладной микробиологии и биотехнологии, Оболенск, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-3559-9071>

Асланян Елена Мкртчичевна — к.б.н., н.с. отдела дезинфектологии ГНЦ прикладной микробиологии и биотехнологии, Оболенск, Россия, <https://orcid.org/0000-0001-9538-9968>

Ершова Марина Геннадьевна — зав. микробиологической лаб. Инфекционной клинической больницы № 1, Ярославль, Россия, <https://orcid.org/0000-0003-4691-648X>

Полеаева Елена Дмитриевна — врач-бактериолог Инфекционной клинической больницы № 1, Ярославль, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-7074-6989>

Светоч Эдуард Арсеньевич — д.вет.н., профессор, г.н.с. лаб. антимикробных препаратов отдела молекулярной микробиологии ГНЦ прикладной микробиологии и биотехнологии, Оболенск, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-3185-1954>

Шепелин Анатолий Прокопьевич — д.б.н., зам. директора по научной и производственной работе ГНЦ прикладной микробиологии и биотехнологии, Оболенск, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-8253-7527>

Фурсова Надежда Константиновна — к.б.н., в.н.с. лаб. антимикробных препаратов отдела молекулярной микробиологии ГНЦ прикладной микробиологии и биотехнологии, Оболенск, Россия, <https://orcid.org/0000-0001-6053-2621>

Участие авторов. Все авторы внесли существенный вклад в проведение поисково-аналитической работы и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию до публикации.

Статья поступила в редакцию 27.09.2021;
принята к публикации 12.11.2021;
опубликована 25.12.2021

Information about the authors

Pavel V. Slukin[✉] — researcher, Laboratory of antimicrobial agents, Molecular microbiology department, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology, Obolensk, Russia, xopgi@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4976-0145>

Eugeny I. Astashkin — Cand. Sci. (Med.), leading researcher, Laboratory of antimicrobial agents, Molecular microbiology department, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology, Obolensk, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-3559-9071>

Elena M. Aslanyan — researcher, Disinfectology department, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology, Obolensk, Russia, <https://orcid.org/0000-0001-9538-9968>

Marina G. Ershova — Head, Microbiology laboratory, Infectious Clinical Hospital No. 1, Yaroslavl, Russia, <https://orcid.org/0000-0003-4691-648X>

Elena D. Poletaeva — bacteriologist, Microbiology laboratory, Infectious Clinical Hospital No. 1, Yaroslavl, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-7074-6989>

Edward A. Svetoch — D. Sci. (Vet.), Professor, chief researcher, Laboratory of antimicrobial agents, Molecular microbiology department, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology, Obolensk, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-3185-1954>

Anatoly P. Shepelin — D. Sci. (Biol.), Deputy Director for scientific and industrial Work, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology, Obolensk, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-8253-7527>

Nadezhda K. Fursova — Cand. Sci. (Biol.), leading researcher, Laboratory of antimicrobial agents, Molecular microbiology department, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology, Obolensk, Russia, <https://orcid.org/0000-0001-6053-2621>

Author contribution. All authors made a substantial contribution to the conception of the work, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the work, final approval of the version to be published.

The article was submitted 27.09.2021;
accepted for publication 12.11.2021;
published 25.12.2021