

Оригинальное исследование  
<https://doi.org/10.36233/0372-9311-493>



## Интегративный подход к оценке патогенного потенциала штаммов *Escherichia coli*, выделенных из мочи

Макарова М.А.<sup>1,2✉</sup>, Матвеева З.Н.<sup>1</sup>, Кафтырева Л.А.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия;

<sup>2</sup>Северо-Западная медицинская академия имени И.И. Мечникова, Санкт-Петербург, Россия

### Аннотация

**Актуальность.** Уропатогенные/Uropathogenic *Escherichia coli* (UPEC) характеризуются способностью к выживанию и размножению в мочевом тракте за счёт наличия специфических факторов вирулентности. В рутинной практике выявление диагностически значимой бактериурии не даёт представления о локализации инфицирования мочевой системы (почечная паренхима, мочевого пузыря), патогенном потенциале выделенного штамма в прогрессировании и хронизации инфекционного процесса, возникновении жизнеугрожающих состояний (уросепсис, менингит).

**Цель** — охарактеризовать популяционную структуру, генетическое разнообразие и патогенный потенциал штаммов *E. coli*, выделенных из мочи.

**Материалы и методы.** Изучены 194 штамма *E. coli*, выделенные из мочи. Детекцию 17 генов, кодирующих синтез адгезинов (*pap*, *fimH*, *sfa*, *focG*, *afa*), токсинов (*hlyA*, *cvaC*, *cnf*, *cdtB*), капсульных антигенов (*kpsMTII*, *kpsMTIII*, *kpsMT K1*), сидерофоров (*fyuA*, *iutA*), инвазинов (*ibeA*), генетических маркеров острова патогенности UPEC CFT073, гена *traT*, кодирующего фактор резистентности к бактерицидному действию сыворотки и принадлежность к филогенетическим группам, выполняли методом ПЦР. Для оценки статистической значимости различий применяли точный критерий Фишера. Достоверными считали различия при 95% доверительном интервале ( $p < 0,05$ ).

**Результаты.** Штаммы *E. coli* чаще ( $p < 0,05$ ) принадлежали к филогенетической группе B2 (57,7%). Патогенетически значимые детерминанты вирулентности выявлены у 97,9% штаммов. По сочетанию 17 генов установлены 134 индивидуальных генотипа вирулентности. У 93,3% штаммов выявлена генетическая предрасположенность к возникновению рецидивов инфекций мочевыводящих путей, у 6,9% — потенциал развития пиелонефрита и рецидивирующего цистита. Маркеры жизнеугрожающих осложнений инфекций мочевыводящих путей выявлены у 12% штаммов, из них 10,7% свидетельствовали о развитии уросепсиса, 1,3% — менингита.

**Заключение.** Детекция комплекса генов в штаммах *E. coli*, выделенных из мочи, подтверждает этиологическую значимость изолята и позволяет оценить патогенный потенциал развития хронических форм и тяжёлых жизнеугрожающих осложнений.

**Ключевые слова:** инфекции мочевыводящих путей, уропатогенные *Escherichia coli*, UPEC, вирулентность, лабораторная диагностика

**Этическое утверждение.** Исследование проводилось при добровольном информированном согласии пациентов. Протокол исследования одобрен Этическим комитетом Санкт-Петербургского НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера (протокол № 27 от 02.07.2020).

**Источник финансирования.** Авторы заявляют об отсутствии внешнего финансирования при проведении исследования.

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

**Для цитирования:** Макарова М.А., Матвеева З.Н., Кафтырева Л.А. Интегративный подход к оценке патогенного потенциала штаммов *Escherichia coli*, выделенных из мочи. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2024;101(1):72–79.

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-493>

EDN: <https://www.elibrary.ru/ytaqsf>

# An integrative approach to assessing the pathogenic potential of *Escherichia coli* strains isolated from urine

Mariia A. Makarova<sup>1,2✉</sup>, Zoya N. Matveeva<sup>1</sup>, Lidiya A. Kaftyreva<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Saint-Peterburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russia;

<sup>2</sup>North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, St. Petersburg, Russia

## Abstract

**Introduction.** Uropathogenic *Escherichia coli* (UPEC) are characterized by the ability to survive and reproduce in the urinary tract due to the presence of specific virulence factors. In routine laboratory practice, the detection of diagnostically significant bacteriuria does not provide an idea of the level of infection of the urinary system (renal parenchyma, bladder), the pathogenic potential of the strain in the progression and chronicity of the infectious process, and the occurrence of life-threatening conditions (urosepsis, meningitis).

**Objective.** To characterize the population structure, genetic diversity and pathogenic potential of *E. coli* strains isolated from urine.

**Materials and methods.** 194 strains of *E. coli* isolated from urine were studied. Detection of 17 genes encoding the synthesis of: adhesins (*pap*, *fimH*, *sfa*, *focG*, *afa*), toxins (*hlyA*, *cvaC*, *cnf*, *cdtB*), capsular antigens (*kpsMTII*, *kpsMTIII*, *kpsMT K1*), siderophores (*fyuA*, *iutA*), invasins (*ibeA*), genetic markers of the pathogenicity island (PAI) of UPEC CFT073, the gene (*traT*) encoding serum resistance capacity and phylogenetic groups were performed by PCR (CXT-1000, BioRad, USA) with published primers (Synthol, Sibenzyme, Evrogen, Russia). To assess the statistical significance of differences, Fisher's exact test was used. Differences were considered significant at a confidence interval of 95% ( $p < 0.05$ ).

**Results.** *E. coli* strains more often ( $p < 0.05$ ) belonged to the phylogenetic group B2 (57.7%). Pathogenetically significant virulence determinants were identified in 97.9% of strains. Based on the combination of 17 genes, 134 individual virulence genotypes were identified. In 93.3% of strains, a genetic predisposition to the occurrence of recurrent urinary tract infections (UTIs) was revealed, in 6.9% there was a potential for the development of pyelonephritis and recurrent cystitis. Markers of life-threatening complications of UTI were identified in 12% of strains, of which 10.7% were the development of urosepsis and 1.3% were meningitis.

**Conclusion.** Detection of a complex of genes in *E. coli* strains isolated from urine confirms the etiological significance of the isolate and allows one to assess the pathogenic potential for the development of chronic and severe life-threatening complications.

**Keywords:** urinary tract infections, uropathogenic *E. coli*, UPEC, virulence, laboratory diagnostics

**Ethics approval.** The study was conducted with the informed consent of the patients. The research protocol was approved by the Ethics Committee of the Saint-Peterburg Pasteur Institute (protocol No. 27, July 2, 2020).

**Funding source.** This study was not supported by any external sources of funding.

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

**For citation:** Makarova M.A., Matveeva Z.N., Kaftyreva L.A. An integrative approach to assessing the pathogenic potential of *Escherichia coli* strains isolated from urine. *Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology*. 2024;101(1):72–79.

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-493>

EDN: <https://www.elibrary.ru/ytaqsf>

## Введение

Мочевыводящие пути являются распространённым локусом бактериальной инфекции, а *Escherichia coli* — наиболее частым возбудителем этого биотопа. Инфекции мочевыводящих путей (ИМП) могут иметь различную клиническую картину — от бессимптомной бактериурии, восходящих инфекций (острого пиелонефрита) до тяжёлого уросепсиса [1–3].

Уропатогенные/Uropathogenic *E. coli* (UPEC) характеризуются повышенной адаптационной спо-

собностью к выживанию и размножению в мочевом тракте за счёт наличия специфических липополисахаридов, капсул, белков наружной мембраны, фимбрий, пилей, секретируемых токсинов, сидерофоров, а также резистентности к бактерицидному действию сыворотки. Уропатогенный потенциал *E. coli* последовательно реализуется на различных этапах инфекционного процесса: адгезии, колонизации, персистенции [4].

Для успешной колонизации тканей мочевыводящей системы *E. coli* необходимы конкретные ад-

гезины. К основным факторам адгезии относят пили или фимбрии. Типичными для UPEC являются пили 1-го типа (FimH), P, S и F1C-фимбрии. Адгезины FimH, кодируемые геном *fimH*, играют важную роль в начале развития ИМП и считаются самым распространённым фактором вирулентности UPEC [5, 6]. Штаммы, вызывающие цистит, всегда экспрессируют фимбрии типа 1; при отсутствии других фимбрий инфекция ограничивается поражением мочевого пузыря. Главной разновидностью пилей, специфичных для UPEC, являются P-фимбрии, кодируемые геном *pap*. Они отсутствуют у комменсальных и диареогенных *E. coli* и получили такое название, т.к. чаще обнаруживаются у штаммов, ассоциированных с пиелонефритом [7]. Маннозрезистентные S-пили подразделяют на Sfa-, F1C-пили (Foc) и S/F1C-связанные пили (Sfr). Эти адгезины имеют высокую степень гомологии, но различаются рецепторной специфичностью; S-пили экспрессируются преимущественно штаммами сепсис- (SEPEC) и менингит-ассоциированными *E. coli* (NMEC), но могут встречаться и у штаммов UPEC, вызывающих восходящие ИМП. Кроме фимбриальных адгезинов, у UPEC широко распространены афимбриальные, кодируемые геном *afa*, способствующие адгезии к уротелиальным клеткам. Штаммы, синтезирующие афимбриальные адгезины, имеют высокий потенциал развития пиелонефрита и рецидивирующего цистита [8].

Токсины играют важную роль при ИМП, поскольку способствуют распространению бактерий в тканях, повышению цитотоксичности, устойчивости к нейтрофилам, повреждению и нарушению метаболизма клеток хозяина. Наиболее изученным токсином, секретируемым UPEC, является  $\alpha$ -гемолизин — HlyA (продукт гена *hlyA*), 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. Токсин CNF1 (цитотоксический некротический фактор 1), кодируемый геном *cnf*, препятствует полиморфноядерному фагоцитозу, способствует выработке биологически активных компонентов, вызывая функциональные и структурные повреждения, а также апоптоз эпителиальных клеток мочевого пузыря [6, 8]. Токсин с ДНКазной активностью CDT (фактор расширения цитолетального токсина), кодируемый геном *cdt*, приводит к апоптозу клеток; встречается более чем у 90% штаммов UPEC [9, 10].

К факторам персистенции UPEC относят капсулы (синтез К-антигенов), которые защищают бактерии от фагоцитоза и бактерицидного действия системы комплемента [8].

Решающее значение для выживания UPEC в уретральном тракте имеет продукция сидерофоров

(железосвязывающих белков), определяющих способность бактериальных клеток к захвату железа. Синтез сидерофоров увеличивает вирулентность UPEC. К основным сидерофорам относят аэробактин (*iutA*) и иерсинибактин (*fyuA*) [11].

В рутинной практике бактериологического исследования методы типирования *E. coli*, вызывающих ИМП, не используют. Критерием диагноза при ИМП является обнаружение микроорганизмов в концентрации как минимум  $10^3$  КОЕ в 1 мл мочи. Выявление диагностически значимой бактериурии не дает представления о локализации инфицирования мочевой системы (почечная паренхима, мочевого пузыря) [1]. Поэтому одной из наиболее важных задач лаборатории клинической микробиологии является осмысленный анализ полученных результатов, а также оценка этиологической значимости выделенного микроорганизма [12]. Основную сложность при интерпретации результатов представляют изоляты, выделенные из мочи, за счёт возможной контаминации *E. coli* представителями нормобиоты кишечника. Врач-микробиолог должен не только определить, является ли выделенный изолят *E. coli* истинным возбудителем или это следствие контаминации пробы на преаналитическом этапе, но и оценить патогенный потенциал конкретного изолята в развитии хронических форм ИМП или тяжёлых жизнеугрожающих состояний, таких как сепсис или менингит. Несмотря на то что научные исследования продолжаются в течение многих лет, конкретные критерии для отнесения штаммов к UPEC не установлены.

В результате вышесказанного **цель работы** — охарактеризовать популяционную структуру, генетическое разнообразие и патогенный потенциал штаммов *E. coli*, выделенных из мочи.

## Материалы и методы

Объектами исследования явились 194 штамма *E. coli*, выделенные из мочи пациентов с неосложнёнными ИМП. Предметом исследования служили биологические свойства штаммов, отражающие патогенность (гены вирулентности, ассоциированные с адгезией, инвазией, токсинообразованием, персистенцией и др.).

Исследование проводилось при добровольном информированном согласии пациентов. Протокол исследования одобрен Этическим комитетом Санкт-Петербургского НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера (протокол № 27 от 02.07.2020).

Выделение ДНК проводили с использованием набора «InstaGene Matrix» («BioRad»). ПЦР выполняли в режиме автоматической амплификации в термоциклере «СХТ-1000» («BioRad»). Использовали готовую смесь с Taq ДНК-полимеразой, «PCR Master Mix» («ThermoFisher Scientific»). Праймеры

вносили в пределах 0,5–1,5 мкл при неизменённом объёме пробы (20 мкл), что достигалось соответствующим изменением объёма стерильной дистиллированной воды. Использовали ранее исследованные праймеры («Синтол», «Сибэнзим», «Евроген») [13–15]. Разделение амплифицированных фрагментов ДНК проводили в 0,5×ТВЕ буфере с добавлением бромистого этидия при 120 В в течение 60 мин в камере для электрофореза («BioRad») в горизонтальном геле. Для визуализации результатов ПЦР использовали систему документирования «GelDoc» («BioRad»). В качестве маркеров молекулярного веса применяли ДНК-маркер «100 bp + 1,5 Kb + 3 Kb» («Сибэнзим»).

Штаммы тестировали на наличие 17 генов, кодирующих синтез факторов вирулентности: адгезинов (*pap*, *fimH*, *sfa*, *focG* и *afa*), токсинов (*hlyA*, *cvaC*, *cnf* и *cdtB*), капсульных антигенов (*kpsMTII*, *kpsMTIII*, *kpsMT K1*), сидерофоров (*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.

Филогенетическую принадлежность штаммов *E. coli* определяли методом мультиплексного флотипирования на основе ПЦР с использованием праймеров, нацеленных на три маркера: *chuA*, *yjaA* и TspE4.C2 [16].

Полученные данные обрабатывали с помощью компьютерной программы «Excel» («Microsoft»). Для оценки статистической значимости различий средних величин применяли точный критерий Фишера. Статистически значимыми считали различия при доверительном интервале 95% ( $p < 0,05$ ).

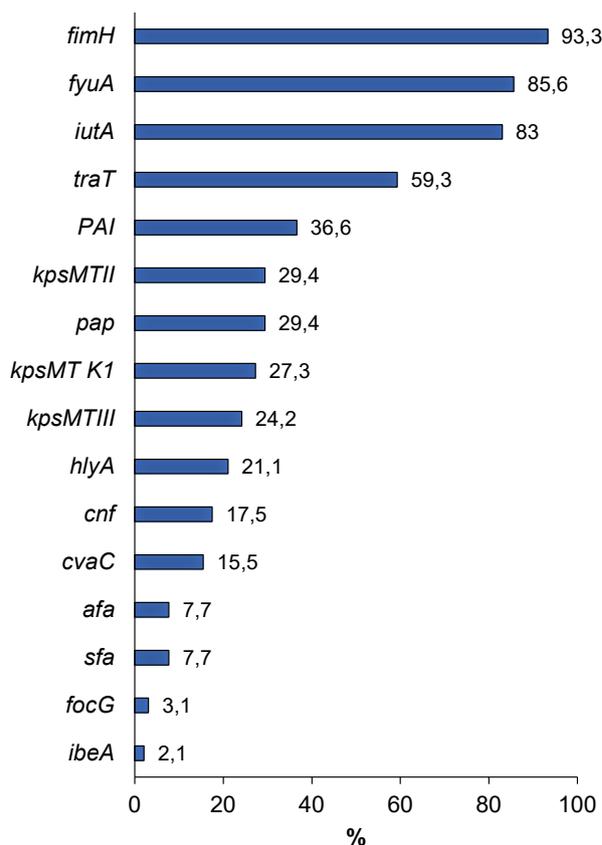
## Результаты

При анализе комбинации генов *chuA*, *yjaA* и TspE4.C2 установлено, что штаммы *E. coli* статистически значимо чаще ( $p < 0,05$ ) принадлежали филогенетической группе B2 (57,7%) по сравнению со штаммами филогрупп А (4,6%), В1 (7,2%) и D (30,4%); значимо реже ( $p < 0,05$ ) — к филогруппам А и В1 по сравнению с В2 и D.

Распространённость генов, кодирующих синтез факторов вирулентности UPEC, колебалась от 2,1% (*ibeA*) до 93,3% (*fimH*). Ген, ответственный за продукцию цитолетального расширяющего токсина (*cdtB*), участвующего в подавлении пролиферации клеток с последующей их гибелью, ни у одного штамма не выявлен. Частота встречаемости генетических детерминант, кодирующих факторы вирулентности UPEC, представлена на рисунке.

Анализ детекции генов, ассоциированных с адгезией, показал, что практически все штаммы содержали ген *fimH* (93,3%), кодирующий маннозочувствительные фимбрии 1-го типа. Ген *pap*, ответственный за синтез пиелонефрит-ассоциированных

пилей, встречался практически у каждого третьего штамма (29,4%); ген *afa*, кодирующий афимбриальные адгезины, — у 7,7% изученных штаммов *E. coli*; детерминанты *sfa* и *focG*, ассоциированные с фимбриальными адгезинами, — у 7,7 и 3,1%; гены *hlyA* и *cnf*, кодирующие синтез токсинов ( $\alpha$ -гемолизина и цитонекротического фактора), — у 21,1 и 17,5%; ген *cvaC*, ответственный за продукцию колицина V, — у 15,5%. Ответственный за инвазию эндотелиальных клеток гематоэнцефалического барьера ген *ibeA* обнаружен у 4 (2,1%) штаммов *E. coli*. Частота встречаемости генетических детерминант, кодирующих синтез сидерофоров: иерси небактина (*fyuA*) и азробактина (*iutA*), составляла 85,6 и 83,0%. Гены, кодирующие синтез капсульных антигенов, выявлены у 61,9% изученных штаммов. Гены *kpsMTII* и *kpsMTIII*, кодирующие комплексы антигенов K1, K5, K12 и K3, K10, K54, были выявлены у 29,4 и 24,2% штаммов. «Типоспецифический» ген *kpsMT K1*, кодирующий антиген K1, по химической структуре и иммунохимическим характеристикам идентичный K-антигену *Neisseria meningitidis*, обнаружен у 27,3% штаммов. Кодирующий фактор устойчивости бактериальной клетки к бактерицидному действию сыворотки крови — ген *traT* — выявлен у 59,3% штаммов. У 36,6% штаммов были выявлены PAI — UPEC CFT073.



Распространённость генов, кодирующих факторы вирулентности UPEC.

Prevalence of genes encoding UPEC virulence factors.

Генетические детерминанты вирулентности УРЕС в изученных штаммах присутствовали в сочетаниях и изолированно. В геноме 4 (2,1%) штаммов не выявлено ни одного из тестируемых генов вирулентности. У 1 (0,5%; 95% ДИ 0,1–2,9%) штамма был выявлен 1 ген. Остальные 99,5% штаммов характеризовались наличием комбинаций генов, из них 1,5% (95% ДИ 0,5–4,5%) — сочетанием 2 генетических детерминант, 10,3% (95% ДИ 6,8–15,4) — 3. Статистически значимо чаще ( $p < 0,05$ ) встречались штаммы, содержащие комбинации из 4 генов, — 16,0% (95% ДИ 11,5–21,8%), 5 генов — 23,2% (95% ДИ 17,8–29,6%), 6 генов — 33,0% (95% ДИ 26,8–39,9%). Семь маркеров вирулентности были выявлены у 9,8% (95% ДИ 6,4–14,8%) штаммов, 8 — у 3,1% (95% ДИ 1,4–6,6%), 9 — у 2,1% (95% ДИ 0,8–5,2%). Геном 1 штамма (0,5%; 95% ДИ 0,1–2,9%) был представлен индивидуальным профилем и характеризовался комбинацией 10 генов.

Встречаемость генов и кодируемые ими факторы вирулентности *E. coli* различных филогенетиче-

ских групп представлены в **таблице**. В штаммах всех филогенетических групп значимо чаще ( $p < 0,05$ ), по сравнению с другими генами, ассоциированными с адгезией, присутствовал ген *fimH*. Ген *pap* встречался в штаммах *E. coli* филогенетической группы В2 (36,6%), что значимо чаще ( $p < 0,05$ ) по сравнению со штаммами групп А (11,1%), В1 (14,3%) и D (1,7%). Кодирующий афимбриальные антиген-связывающие адгезины ген *afa* чаще присутствовал в штаммах филогенетической группы В1 (64,3%). Кодирующий синтез фимбриальных адгезинов ген *sfa* без значимых различий был выявлен в штаммах филогенетических групп В1 (4,8%) и В2 (11,8%). Ген *focG*, кодирующий фимбриальный адгезин F1C уропатогенных *E. coli*, выявлен только в штаммах филогенетической группы В2 (4,5%).

Анализ встречаемости генов, ассоциированных с продукцией токсинов, показал, что статистически значимо чаще ( $p < 0,05$ ) генетические маркеры токсинообразования присутствовали в штаммах филогенетической группы В2 (46,4%) по сравнению со штаммами других филогрупп.

#### Встречаемость генов и факторов вирулентности в штаммах *E. coli* различных филогенетических групп

Occurrence of genes and virulence factors in *E. coli* strains of various phylogenetic groups

Гены и факторы вирулентности Genes and virulence factors	Филогенетические группы   Phylogenetic groups											
	A (n = 9)			B1 (n = 14)			B2 (n = 112)			D (n = 59)		
	абс. abs.	%	95% ДИ 95% CI	абс. abs.	%	95% ДИ 95% CI	абс. abs.	%	95% ДИ 95% CI	абс. abs.	%	95% ДИ 95% CI
<b>Адгезины   Adhesins</b>	7	77,8	45,3–93,7	14	100,0	78,5–100	110	98,2	93,7–99,5	27	45,8	33,7–58,7
<i>fimH</i>	5	55,6	26,7–81,1	14	100,0	78,5–100	104	92,9	86,5–96,3	27	45,8	33,7–58,7
<i>pap</i>	1	11,1	2,0–43,5	2	14,3	4,0–40,0	41	36,6	28,3–45,8	1	1,7	0,03–9,0
<i>afa</i>	2	22,2	6,3–54,7	9	64,3	38,8–83,7	2	1,8	0,5–6,3	0	0	0–6,1
<i>sfa</i>	0	0,0	0–29,9	0	0,0	0–21,5	14	12,5	7,6–19,9	1	1,7	0,03–9,0
<i>focG</i>	0	0,0	0–29,9	0	0,0	0–21,5	1	4,5	0,2–4,9	0	0	0–6,1
<b>Токсины   Toxins</b>	3	33,3	12,1–64,6	3	21,4	7,6–47,6	50	46,4	35,8–53,9	6	10,2	4,8–20,5
<i>hlyA</i>	0	0,0	0–29,9	1	7,1	1,3–31,5	28	25,0	17,9–33,8	3	5,1	1,7–13,9
<i>cnf</i>	2	22,2	6,3–54,7	0	0,0	0–21,5	22	19,6	13,3–27,9	0	0	0–6,1
<i>cvaC</i>	1	11,1	2,0–43,5	2	14,3	4,01–39,95	9	8,0	4,3–14,6	4	6,8	2,7–16,2
<b>Инвазины   Invasins</b>	0	0,0	0–29,9	0	0,0	0–21,53	3	2,7	0,92–7,58	0	0	0–6,11
<i>ibeA</i>	0	0,0	0–29,9	0	0,0	0–21,53	3	2,7	0,92–7,58	0	0	0–6,11
<b>Сидерофоры   Siderophore</b>	3	33,3	12,1–64,6	14	100,0	78,5–100	110	98,2	93,7–99,5	28	47,5	35,3–59,9
<i>fyuA</i>	3	33,3	12,1–64,6	11	78,6	52,4–92,4	98	87,5	80,1–92,4	23	39,0	27,6–51,7
<i>iutA</i>	2	22,2	6,3–54,7	11	78,6	52,4–92,4	91	81,3	73,0–87,4	20	33,9	23,1–46,6
<b>Капсулы   Capsules</b>	1	11,1	2,0–43,5	6	42,9	21,4–67,4	63	56,3	47,0–65,1	9	15,3	8,2–56,5
<i>kpsMTIII</i>	1	11,1	2,0–43,5	4	28,6	11,7–54,7	26	23,2	16,4–31,8	0	0	0–6,1
<i>kpsMT K1</i>	0	0,0	0–29,9	0	0,0	0–21,5	21	28,6	12,6–27,0	3	5,1	1,7–13,9
<i>kpsMTII</i>	0	0,0	0–29,9	4	28,6	11,7–54,7	31	27,7	20,2–36,6	6	10,2	4,6–20,5
<b>Другие   Others</b>												
<i>traT</i>	6	66,7	35,4–87,9	10	71,4	45,4–88,3	21	18,8	12,6–27,0	48	81,4	69,6–89,3
PAI	1	11,1	2,0–43,5	7	50,0	26,8–73,2	37	33,0	25,0–45,2	49	83,1	71,5–90,5

Генетические маркеры, ответственные за синтез сидерофоров, без достоверных различий присутствовали в штаммах, принадлежащих к различным филогенетическим группам.

Гены, кодирующие синтез К-антигенов (*kpsMTIII*, *kpsMT K1*, *kpsMTII*), защищающих бактериальную клетку от фагоцитоза, статистически значимо ( $p < 0,05$ ) чаще присутствовали в штаммах филогенетической группы В2 (56,3%) по сравнению со штаммами других филогенетических групп.

Ген *traT* — фактор резистентности к бактерицидному действию сыворотки крови и PAI — маркер острого патогенности UPEC в сопоставимых долях встречались в штаммах всех филогенетических групп.

### Обсуждение

Основную сложность интерпретации результатов культурального метода при детекции патогенных штаммов — возбудителей заболеваний внекишечной локализации (ExPEC) представляют изоляты, выделенные из мочи, в связи с отсутствием чётко сформулированных критериев оценки этиологической значимости конкретного изолята, а также из-за возможной контаминации пробы. К истинным возбудителям ExPEC, включая UPEC, относят штаммы, содержащие 2 или более основных генов вирулентности (*pap*, *sfa*, *afa*, *kpsMTII*, *iutA*). Другие, так называемые дополнительные гены (*fimH*, *hlyA*, *cvaC*, *cnf*, *cdtB*, *kpsMTIII*, *ibeA*, *traT* и *PAI*), могут быть потенциально связаны с ExPEC, т.к. способствуют адаптивной и конкурентной колонизации [17, 18]. Штаммы *E. coli*, которые, помимо основных генов вирулентности ExPEC, имеют и потенциальные, характеризуются повышенной способностью адаптироваться к новым нишам, что позволяет им вызывать широкий спектр заболеваний.

Выделенные из мочи штаммы *E. coli* принадлежали к различным филогенетическим группам, причём большинством (88,1%) — к группам В2 (57,7%) и D (30,4%), к которым, как правило, относят возбудителей заболеваний внекишечной локализации [19]. К группам А и В1, с которыми ассоциируют комменсальные *E. coli*, были отнесены 4,6 и 7,2% штаммов [16]. Патогенетически значимые генетические детерминанты вирулентности выявлены у 97,9% штаммов. По сочетанию 17 генов, ассоциированных с адгезией (*fimH*, *pap*, *afa*, *sfa* и *focG*), синтезом сидерофоров (*fyuA* и *iutA*), капсул (*kpsMTII*, *kpsMTIII* и *kpsMT K1*), токсинов (*hlyA*, *cnf*, *cdt* и *cvaC*), инвазинов (*ibeA*), обеспечивающих резистентность к бактерицидному действию сыворотки крови (*traT*), наличию острова патогенности UPEC (*PAI*) выявлены 134 индивидуальных генотипа вирулентности. Подавляющее большинство (99,5%) штаммов содержали от 2 до 10 генов вирулентности. Полученные результаты, свидетельствующие о

выраженной генетической гетерогенности штаммов UPEC, согласуются с данными российских исследователей [20, 21]. Проведённое исследование показало, что 95,9% (186/194) штаммов, выделенных из мочи, удовлетворяли критериям UPEC — имели 3–10 генов, принадлежали к филогруппам В2 и D. Восемь (4,1%) штаммов принадлежали к филогруппам А и В1, не имели основных и дополнительных генов вирулентности и были расценены как контаминанты.

Генетическая предрасположенность к рецидивам ИМП была у выявлена 93,3% штаммов за счёт наличия адгезинов *FimH*, кодируемых геном *fimH*, содействующих персистенции UPEC [5–7]. Кроме фимбриальных адгезинов, у UPEC широко распространены кодируемые геном *afa* афимбриальные адгезины семейства Afa/Dr, способствующие адгезии с уротелиальными клетками. В проведённом исследовании у 13 обследованных пациентов были выявлены штаммы, синтезирующие афимбриальные адгезины, которые, согласно данным других исследователей, имеют высокий потенциал возникновения пиелонефрита и рецидивирующего цистита [22].

Распространённой причиной бактериальных менингитов новорождённых с летальностью до 40%, а также тяжёлых неврологических последствий являются менингит-ассоциированные *E. coli* (NMEC) [23, 24]. В большинстве случаев инфицирование новорождённых происходит при наличии NMEC в мочеполовых путях рожениц, носительстве их в кишечнике или как осложнение неонатального сепсиса [25]. Эшерихиозный сепсис нередко рассматривают как вторичную инфекцию. Каждый третий случай — это уросепсис, который может возникнуть при любом урологическом заболевании (нарушение уродинамики при ИМП, гнойные формы пиелонефрита, задержка мочи, острый простатит) [26]. Риск развития сепсиса повышается при инфекционном процессе, вызванном штаммами *E. coli*, которые имеют в своей структуре Р-пили и S-фимбрии, продуцирующие гемолизин, цитонекротический фактор и синтезирующие капсульный антиген К2 [8, 14]. Маркеры неблагоприятного прогноза течения ИМП выявлены у 12% штаммов, из них 10,7% имели генетические детерминанты, ассоциированные с развитием сепсиса (уросепсиса), 1,3% — менингита.

Наличие достаточно противоречивых результатов при применении традиционного бактериологического метода лабораторного исследования заставляет критически переоценить его диагностическую значимость в сторону, бесспорно, перспективного молекулярно-генетического метода. Общепринятая практика безоговорочного признания этиологической значимости конкретного изолята, количественно преобладающего в пробе при культуральном исследовании, выглядит, по меньшей мере, сомнительной [27]. Тем не менее отказаться от общепринятого

метода культивирования микроорганизмов невозможно в силу того, что он позволяет получить информацию о клинически значимых штаммах, их количестве и ассоциациях, оценить чувствительность к антибиотикам, бактериофагам и дезинфектантам, а также является неотъемлемым этапом выделения ДНК для последующих молекулярных исследований, включая полногеномное секвенирование.

### Заключение

Проведённое исследование показало, что детекция комплекса генов в штаммах *E. coli*, выделенных из мочи, не только подтверждает этиологическую значимость изолята, но и позволяет оценить патогенный потенциал развития хронических форм и острых угрожающих жизни осложнений. Выявленная гетерогенность популяции УРЕС свидетельствует о необходимости оптимизации алгоритма и разработки стандартов лабораторной диагностики и профилактики осложнений заболеваний, вызванных уропатогенными *E. coli*. Результаты интегративного подхода в лабораторной диагностике ИМП с использованием всех адекватных методов (традиционных, современных, инновационных), сосредоточенных на принципах доказательной медицины — достоверности научных доказательств их эффективности, необходимо учитывать в практике специалистов различного профиля.

### СПИСОК ИСТОЧНИКОВ | REFERENCES

1. Бухарин О.В., Гриценко В.А., Вялкова А.А. Факторы уропатогенности бактерий: роль в патогенезе и значение в диагностике пиелонефрита. *Нефрология и диализ*. 2001;3(4): 469–75. Bukharin O.V., Gritsenko V.A., Vyalkova A.A. Factors of uropathogenicity of bacteria: role in pathogenesis and significance in the diagnosis of pyelonephritis. *Nephrology and Dialysis*. 2001;3(4):469–75. EDN: <https://elibrary.ru/wjcffv>
2. Ali I., Rafeque Z., Ahmed I., et al. Phylogeny, sequence-typing and virulence profile of uropathogenic *Escherichia coli* (UPEC) strains from Pakistan. *BMC Infect. Dis*. 2019;19(1):620. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12879-019-4258-y>
3. European Association of Urology. Guidelines on urological infection; 2018. Available at: <https://uroweb.org/wp-content/uploads/EAU-Guidelines-on-Urological-Infections-2018-large-text.pdf>
4. Кузнецова М.В., Гизатуллина Ю.С. Генетические профили адгезии и адгезивная вариабельность уропатогенных штаммов *Escherichia coli*. *Инфекция и иммунитет*. 2021;11(3):481–90. Kuznetsova M.V., Gizatullina J.S. Genetic adhesion profiles and adhesive variability of uropathogenic *Escherichia coli* strains. *Russian Journal of Infection and Immunity*. 2021;11(3):481–90. DOI: <https://doi.org/10.15789/2220-7619-GAP-1413> EDN: <https://elibrary.ru/edkmlc>
5. Hancock S.J., Lo A.W., Ve T., et al. Ucl fimbriae regulation and glycan receptor specificity contribute to gut colonisation by extra-intestinal pathogenic *Escherichia coli*. *PLoS Pathog*. 2022;18(6):e1010582. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1010582>
6. Etefia E.U., Ben S.A. Virulence markers, phylogenetic evolution, and molecular techniques of uropathogenic *Escherichia coli*. *J. Nat. Sci. Med*. 2020;3(1):13–22. DOI: [https://doi.org/10.4103/JNSM.JNSM\\_31\\_19](https://doi.org/10.4103/JNSM.JNSM_31_19)
7. Захарова И.Н., Османов И.М., Мачнева Е.Б. и др. От бактериурии до микробиома мочевых путей: эволюция взглядов ученых и клиницистов. *Медицинский совет*. 2018;(17):168–77. Zakharova I.N., Osmanov I.M., Machneva E.B., et al. From bacteriuria to the urinary tract microbiome: the evolution of the views of researchers and clinicians. *Medical Council*. 2018;(17):168–77. DOI: <https://doi.org/10.21518/2079-701X-2018-17-168-176> EDN: <https://elibrary.ru/ylhwzv>
8. Sarowska J., Futoma-Koloch B., Jama-Kmieciak A., et al. Virulence factors, prevalence and potential transmission of extraintestinal pathogenic *Escherichia coli* isolated from different sources: recent reports. *Gut Pathog*. 2019;11:10. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13099-019-0290-0>
9. Meza-Segura M., Zaidi M.B., Maldonado-Puga S., et al. Cytolethal distending toxin-producing *Escherichia coli* strains causing severe diarrhoea in young Mexican children. *JMM Case Rep*. 2017;4(2):e005079. DOI: <https://doi.org/10.1099/jmmcr.0.005079>
10. Starčić Erjavec M., Žgur-Bertok D. Virulence potential for extraintestinal infections among commensal *Escherichia coli* isolated from healthy humans – the Trojan horse within our gut. *FEMS Microbiol. Lett*. 2015;362(5):fnu061. DOI: <https://doi.org/10.1093/femsle/fnu061>
11. Banerjee R., Weisenhorn E., Schwartz K.J., et al. Tailoring a global iron regulon to a uropathogen. *mBio*. 2020;11(2):e00351-20. DOI: <https://doi.org/10.1128/mbio.00351-20>
12. Камалов А.А., Ходырева Л.А., Дударева А.А., Низов А.Н. Факторы риска развития инфекционно-воспалительного процесса нижних мочевых путей. *Вестник дерматологии и венерологии*. 2015;91(2):63–7. Kamalov A.A., Khodyreva L.A., Dudareva A.A., Nizov A.N. Risk factors causing the development of infection and inflammation of the lower urinary tract. *Bulletin of Dermatology and Venereology*. 2015;91(2):63–7. DOI: <https://doi.org/10.25208/0042-4609-2015-91-2-63-67> EDN: <https://elibrary.ru/tyjeip>
13. Abe C.M., Salvador F.A., Falsetti I.N., et al. Uropathogenic *Escherichia coli* (UPEC) strains may carry virulence properties of diarrhoeagenic *E. coli*. *FEMS Immunol. Med. Microbiol*. 2008;52(3):397–406. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1574-695x.2008.00388.x>
14. Daga A.P., Koga V.L., Soncini J.G.M., et al. *Escherichia coli* bloodstream infections in patients at a University Hospital: virulence factors and clinical characteristics. *Front. Cell. Infect. Microbiol*. 2019;9:191. DOI: <https://doi.org/10.3389/fcimb.2019.00191>
15. Nojoomi F., Ghasemian A. The relation of phylogroups, serogroups, virulence factors and resistance pattern of *Escherichia coli* isolated from children with septicemia. *New Microbes New Infect*. 2019;29:100517. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.nmni.2019.100517>
16. Clermont O., Bonacorsi S., Bingen E. Rapid and simple determination of the *Escherichia coli* phylogenetic group. *Appl. Environ. Microbiol*. 2000;66(10):4555–8. DOI: <https://doi.org/10.1128/aem.66.10.4555-4558.2000>
17. Johnson J.R., Russo T.A. Molecular epidemiology of extraintestinal pathogenic *Escherichia coli*. *EcoSal Plus*. 2018;8(1). DOI: <https://doi.org/10.1128/ecosalplus.esp-0004-2017>
18. Russo T.A., Johnson J.R. Medical and economic impact of extraintestinal infections due to *Escherichia coli*: focus on an increasingly important endemic problem. *Microbes Infect*. 2003;5(5): 449–56. DOI: [https://doi.org/10.1016/s1286-4579\(03\)00049-2](https://doi.org/10.1016/s1286-4579(03)00049-2)
19. Hernández-Chiñas U., Ahumada-Cota R.E., Navarro-Ocaña A., et al. Phenotypic and genotypic characteristics of *Escherichia coli* strains isolated during a longitudinal follow-up study of chronic urinary tract infections. *Front. Public Health*. 2023;11:1240392. DOI: <https://doi.org/10.3389/fpubh.2023.1240392>

20. Казанцев А.В., Осина Н.А., Глинская Т.О. и др. Факторы вирулентности и филогенетическая характеристика уропатогенных штаммов *Escherichia coli*, выделенных на территории г. Саратова. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2019;(4):56–60. Kazantsev A.V., Osina N.A., Glinskaya T.O., et al. Virulence factors and phylogenetic characteristics of uropathogenic *Escherichia coli* strains isolated in Saratov. *Problems of Particularly Dangerous Infections*. 2019;(4):56–60. DOI: <https://doi.org/10.21055/0370-1069-2019-4-56-60> EDN: <https://elibrary.ru/gplihe>
21. Слукин П.В., Асташкин Е.И., Асланян Е.М. и др. Характеристика вирулентных штаммов *Escherichia coli*, выделенных от пациентов с урологической инфекцией. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2021;98(6):671–84. Slukin P.V., Astashkin E.I., Aslanyan E.M., et al. Characterization of virulent *Escherichia coli* strains isolated from patients with urological infection. *Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*. 2021;98(6):671–84. DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-134> EDN: <https://elibrary.ru/rquauu>
22. Whelan S., Lucey B., Finn K. Uropathogenic *Escherichia coli* (UPEC)-associated urinary tract infections: the molecular basis for challenges to effective treatment. *Microorganisms*. 2023;11(9):2169. DOI: <https://doi.org/10.3390/microorganisms11092169>
23. Zhu N., Liu W., Prakash A., et al. Targeting *E. coli* invasion of the blood-brain barrier for investigating the pathogenesis and therapeutic development of *E. coli* meningitis. *Cell Microbiol*. 2020;22(10):e13231. DOI: <https://doi.org/10.1111/cmi.13231>
24. Rudd K.E., Johnson S.C., Agesa K.M., et al. Global, regional, and national sepsis incidence and mortality, 1990–2017: analysis for the Global Burden of Disease Study. *Lancet*. 2020;395(10219):200–11. DOI: [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(19\)32989-7](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(19)32989-7)
25. Багирова Н.С. Бактериemia истинная или ложная: значение критериев оценки клинической значимости положительной гемокультуры. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2015;60(8):55–61. Bagirova N.S. The true or false bacteriemia: the significance of evaluation criteria of clinical significance of positive hemoculture. *Clinical Laboratory Diagnostics*. 2015;60(8):55–61. EDN: <https://elibrary.ru/uiqjnx>
26. Мельников В.Л., Митрофанова Н.Н., Суменкова А.О., Терина Н.А. Гнойно-септические осложнения в урологическом отделении стационара (обзор литературы). *Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Медицинские науки*. 2019;(3):39–53. Mel'nikov V.L., Mitrofanova N.N., Sumenkova A.O., Terina N.A. Purulent-septic complications in the urology unit (literature review). *University Proceedings. Volga Region. Medical Sciences*. 2019;(3):39–53. DOI: <https://doi.org/10.21685/2072-3032-2019-3-4> EDN: <https://elibrary.ru/wkgvtv>
27. Годовалов А.П., Николаева Н.В., Карпунина Т.И., Оборин Д.А. К оценке этиологической значимости бактерий, детектированных в генитальном тракте мужчин. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2022;99(4):428–35. Godovalov A.P., Nikolaeva N.V., Karpunina T.I., Oborin D.A. On the assessment of the etiological significance of bacteria detected in the male genital tract. *Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*. 2022;99(4):428–35. DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-257> EDN: <https://elibrary.ru/npmvrv>

#### Информация об авторах

**Макарова Мария Александровна**<sup>✉</sup> — д.м.н., в.н.с., зав. лаб. кишечных инфекций Санкт-Петербургского НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера, Санкт-Петербург, Россия; доцент каф. медицинской микробиологии Северо-Западного государственного медицинского университета им. И.И. Мечникова, Санкт-Петербург, Россия, [makmaria@mail.ru](mailto:makmaria@mail.ru), <https://orcid.org/0000-0003-3600-2377>

**Матвеева Зоя Николаевна** — к.м.н., в.н.с. лаб. кишечных инфекций Федерального бюджетного учреждения науки Санкт-Петербургского НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера, Санкт-Петербург, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-7173-2255>

**Кафтырева Лидия Алексеевна** — д.м.н., в.н.с., зав. отделом микробиологии Санкт-Петербургского НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера, Санкт-Петербург, Россия; профессор каф. медицинской микробиологии Северо-Западного государственного медицинского университета им. И.И. Мечникова, Санкт-Петербург, Россия, <https://orcid.org/0000-0003-0989-1404>

**Участие авторов:** Макарова М.А. — формирование идеи, разработка концепции и дизайна исследования, проведение исследования, подготовка и редактирование текста статьи; Матвеева З.Н. — анализ и интерпретация полученных данных, редактирование текста статьи, критический пересмотр с внесением ценного замечания интеллектуального содержания; Кафтырева Л.А. — разработка научного дизайна, утверждение окончательного варианта статьи.

Все авторы подтверждают соответствие своего авторства критериям Международного комитета редакторов медицинских журналов, прочли и одобрили финальную версию до публикации.

Статья поступила в редакцию 05.01.2024;  
принята к публикации 21.02.2024;  
опубликована 28.02.2024

#### Information about the authors

**Mariia A. Makarova**<sup>✉</sup> — D. Sci. (Med.), senior researcher, Head, Laboratory of enteric infection, Saint-Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russia; assistant professor, Department of medical microbiology, North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, St. Petersburg, Russia, [makmaria@mail.ru](mailto:makmaria@mail.ru), <https://orcid.org/0000-0003-3600-2377>

**Zoya N. Matveeva** — Cand. Sci. (Med.), senior researcher, Laboratory of enteric infection, Saint-Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-7173-2255>

**Lidiya A. Kaftyreva** — D. Sci. (Med.), senior researcher, Head, Microbiology department, Saint-Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russia; assistant professor, Department of medical microbiology, North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, St. Petersburg, Russia, <https://orcid.org/0000-0003-0989-1404>

**Author contribution:** Makarova M.A. — idea formation, development of the concept and design of the study, conducting the study, preparing and editing the text of the article; Matveeva Z.N. — analysis and interpretation of the data obtained, editing the text of the article, critical revision with the introduction of valuable comments of intellectual content; Kaftyreva L.A. — development of scientific design, approval of the final version of the article. All authors confirm that they meet the International Committee of Medical Journal Editors criteria for authorship, made a final approval of the version to be published.

The article was submitted 05.01.2024;  
accepted for publication 21.02.2024;  
published 28.02.2024