

Оригинальное исследование  
<https://doi.org/10.36233/0372-9311-518>



## Молекулярно-генетическая характеристика уропатогенных *Escherichia coli*, выделенных при бессимптомной бактериурии у беременных

Хуснутдинова Т.А.<sup>✉</sup>, Будиловская О.В., Крысанова А.А., Шалепо К.В.,  
Синякова А.А., Савичева А.М., Коган И.Ю.

Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д.О. Отта,  
Санкт-Петербург, Россия

### Аннотация

**Введение.** Уропатогенные *Escherichia coli* (УРЕС) являются доминирующими бактериальными патогенами при инфекциях мочевыводящих путей (ИМП). УРЕС относятся к разным филогенетическим группам и обладают множеством факторов вирулентности, изучение которых в совокупности с оценкой их связи с клиническими формами ИМП необходимо для лучшего понимания патогенеза и разработки новых диагностических алгоритмов.

**Цель** исследования — молекулярно-генетическая характеристика УРЕС, выделенных при бессимптомной бактериурии у беременных.

**Материалы и методы.** В исследование включены клинические изоляты *E. coli* ( $n = 70$ ), выделенные у беременных с бессимптомной бактериурией (ББУ). Методом полимеразной цепной реакции определяли принадлежность к филогенетическим группам и 15 маркеров вирулентности — гены, ассоциированные с адгезией (*fimH*, *papC*, *sfa*, *afa*, *focG*), инвазией (*ibeA*), синтезом токсинов (*cnf1*, *hlyA*, *sat*, *vat*, *usp*), сидерофоров (*fyuA*, *iroN*, *iuc*), капсульного антигена (*kpsMII*). Для оценки статистической значимости различий средних величин применяли точный критерий Фишера. Статистически значимыми считали различия при 95% доверительном интервале ( $p < 0,05$ ).

**Результаты.** Большинство изолятов УРЕС, выделенных при ББУ, принадлежали к филогруппе B2 (51,4%) и характеризовались детекцией всех ассоциированных с УРЕС факторов вирулентности, включённых в настоящее исследование; достоверно чаще были обнаружены гены, ассоциированные с адгезией (*sfa*, *focG*), синтезом токсинов (*hlyA*, *cnf1*, *vat*, *usp*) и капсул (*kps*), сидерофоры (*fyuA*, *iroN*, *hlyA*). Две и более детерминанты вирулентности выявлены у 93% изолятов.

**Заключение.** Определение ключевых детерминант вирулентности и/или комбинации генов вирулентности может быть прогностическим маркером для прогнозирования течения ИМП, особенно у беременных, и позволит расширить возможности диагностики с учётом вирулентных свойств уропатогена.

**Ключевые слова:** инфекция мочевыводящих путей, бессимптомная бактериурия, уропатогенные *Escherichia coli*, филогенетическая характеристика, факторы вирулентности

**Этическое утверждение.** Исследование проводилось при добровольном информированном согласии пациентов, протокол исследования одобрен локальным этическим комитетом НИИ акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д.О. Отта (протокол № 114 от 14.12.2021).

**Источник финансирования.** Работа выполнена в рамках фундаментального научного исследования FGWN-2022-0004 «Оптимизация методов предикции, профилактики и лечения «больших акушерских синдромов, а также стратегии родоразрешения у беременных из групп высокого риска, с целью улучшения акушерских и перинатальных исходов».

**Конфликт интересов.** Спонсор не играл никакой роли в разработке исследования, сборе и анализе данных, принятии решения о публикации или подготовке рукописи.

**Для цитирования:** Хуснутдинова Т.А., Будиловская О.В., Крысанова А.А., Шалепо К.В., Синякова А.А., Савичева А.М., Коган И.Ю. Молекулярно-генетическая характеристика уропатогенных *Escherichia coli*, выделенных при бессимптомной бактериурии у беременных. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2024;101(4):462–469.

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-518>

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

# The molecular-genetic characteristics of uropathogenic *Escherichia coli* isolated from pregnant women with asymptomatic bacteriuria

Tatiana A. Khusnutdinova<sup>✉</sup>, Olga V. Budilovskaya, Anna A. Krysanova, Kira V. Shalepo, Anna A. Sinyakova, Alevtina M. Savicheva, Igor Yu. Kogan

D.O. Ott Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology, Saint Petersburg, Russia

## Abstract

**Introduction.** Uropathogenic *Escherichia coli* (UPEC) are the dominant bacterial pathogens of urinary tract infections (UTIs). UPEC belong to different phylogenetic groups and have many virulence factors, the study of which, in conjunction with the assessment of their relationship with clinical forms of UTI, is necessary for a better understanding of the pathogenesis of UTI and the development of new diagnostic algorithms.

**Aim:** determination of the molecular genetic characteristics of uropathogenic *Escherichia coli* isolated from pregnant women with asymptomatic bacteriuria.

**Materials and methods.** Clinical isolates of uropathogenic *E. coli* ( $n = 70$ ) from pregnant women with asymptomatic bacteriuria were included in the study. The PCR method was used to determine the belonging to phylogenetic groups and detect 15 virulence markers — genes associated with adhesion (*fimH*, *papC*, *sfa*, *afa*, *focG*); toxin synthesis (*cnf 1*, *hlyA*, *sat*, *vat*, *usp*); siderophores (*fyuA*, *iroN*, *iuc*); capsular antigen (*kpsMIII*). To assess the statistical significance of differences, Fisher's exact test was used. Differences were considered statistically significant at a confidence interval of 95% ( $p < 0.05$ ).

**Results.** Most of the UPEC isolates belonged to phylogroup B2 (51,4%) and were characterized by the detection of all UPEC-associated virulence factors included in this study; genes associated with adhesion (*sfa*, *focG*), invasins (*ibeA*), synthesis of toxins (*hlyA*, *cnf1*, *vat*, *usp*) and capsule (*kpsMIII*), siderophores (*fyuA*, *iroN*, *hlyA*) were detected significantly more frequently ( $p < 0.05$ ). Two or more virulence determinants were detected in 93% of isolates.

**Conclusion.** The identification of key determinants of virulence and/or a combination of virulence genes can be a prognostic marker for predicting the course of UTI, especially in pregnant women, and will expand diagnostic capabilities taking into account the virulent properties of the uropathogen.

**Keywords:** urinary tract infections, asymptomatic bacteriuria, uropathogenic *Escherichia coli*, phylogenetic characteristics, virulence factors

**Ethics approval.** The study was conducted with the informed consent of the patients. The study was approved by the Ethical Committee at the D.O. Ott Research Institute of Obstetrics, Gynaecology and Reproductology (protocol No. 114, December 14, 2021)

**Funding source.** The work was carried out as part of the fundamental scientific research FGWN-2022-0004 "Optimization of methods for prediction, prevention and treatment of "major obstetric syndromes, as well as delivery strategies in high-risk pregnant women, in order to improve obstetric and perinatal outcomes".

**Conflict of interest.** The funder had no role in study design, data collection and analysis, decision to publish, or preparation of the manuscript.

**For citation:** Khusnutdinova T.A., Budilovskaya O.V., Krysanova A.A., Shalepo K.V., Sinyakova A., Savicheva A.M., Kogan I.Yu. The molecular-genetic characteristics of uropathogenic *Escherichia coli* isolated from pregnant women with asymptomatic bacteriuria. *Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology*. 2024;101(4):462–469.

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-518>

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

## Введение

Инфекции мочевыводящих путей (ИМП) являются одними из самых распространённых инфекционных заболеваний. Ежегодно в мире на их долю приходится до 150 млн случаев. По данным разных авторов, до 50–60% женщин хотя бы один раз в жизни сталкиваются с эпизодом ИМП [1, 2]. Клинические симптомы, связанные с ИМП, могут варьировать по степени тяжести в зависимости как от вирулентных свойств возбудителя, так

и от восприимчивости организма к инфекции: от бессимптомного течения (бессимптомная бактериурия — ББУ) до клинически выраженного цистита, пиелонефрита, вплоть до тяжёлого уросепсиса<sup>1</sup>. ББУ представляет собой бактериальную колонизацию мочевыводящих путей (МВП) при отсутствии

<sup>1</sup> European Association of Urology. Guidelines on urological infection; 2018. URL: <https://uroweb.org/guidelines/urological-infections/chapter/the-guideline>

клинических проявлений заболевания. Во время беременности ББУ на протяжении многих лет рассматривается как фактор риска развития пиелонефрита и неблагоприятных исходов беременности (преждевременные роды, рождение детей с низкой массой тела и др.) [3, 4]. Назначение антибактериальных препаратов для лечения ББУ во время беременности может сопровождаться нежелательными эффектами: изменением состава кишечного микробиома беременной, что впоследствии определяет и состав микробиоты новорождённого; нарушением развития иммунной системы ребёнка [5, 6]. Кроме того, антибактериальная терапия может приводить к элиминации потенциально протективных штаммов микроорганизмов, которые предотвращают колонизацию вирулентными уропатогенами, тем самым косвенно способствуя развитию симптоматических ИМП.

Среди возбудителей ИМП доминирующим бактериальным патогеном является *Escherichia coli* — грамотрицательная, подвижная, факультативно анаэробная палочка, относящаяся к порядку *Enterobacteriaceae*. *E. coli* является частью комменсальной микробной популяции кишечника человека и поддерживает стабильность и гомеостаз просветной микробиоты кишечника за счёт симбиотического взаимодействия с организмом человека. Штаммы *E. coli*, обладающие определёнными факторами вирулентности, способны адаптироваться к новым нишам и вызывать широкий спектр заболеваний кишечной и внекишечной локализации.

*E. coli*, ассоциированные с ИМП, известны как уропатогенные/uropathogenic *E. coli* (UPEC) [7]. UPEC обладают множеством как структурных, так и секретируемых факторов вирулентности, необходимых для реализации их патогенного потенциала в МВП. Экспрессия адгезивных органелл, таких как пили 1-го типа, P- и S-фимбрии, позволяет UPEC связываться с рецепторами на поверхности эпителиальных клеток МВП, колонизировать уроэпителий и проникать в клетки и ткани, а также активирует врождённый иммунный ответ. Кроме того, S-фимбриальные адгезины могут экспрессироваться сепсис- и менингит-ассоциированными (neonatal meningitis-associated *E. coli* — NMES) *E. coli*. В патогенезе неонатального менингита также существенную роль играют инвазины, которые встречаются преимущественно у штаммов NMES. Важным патогенным фактором являются токсины (гемолизин, цитотоксический некротизирующий фактор, вакуолизирующий аутотранспортный токсин, секретируемый аутотранспортный токсин), повреждающие клетки и нарушающие их метаболизм. Продукция сидерофоров (железопереносящих белков) определяет способность *E. coli* к захвату железа, что повышает жизнеспособность в МВП. Тяжесть симптоматических проявлений ИМП свя-

зана с приобретением и экспрессией генов вирулентности. При бессимптомной колонизации МВП UPEC не способны экспрессировать ключевые факторы вирулентности, что, вероятно, является механизмом адаптации к длительной персистенции мочевого пузыря [8].

На основании молекулярного анализа штаммы *E. coli* делят на филогенетические группы: A, B1, B2, C, D, E, F и G [9]. UPEC чаще всего относятся к филогруппам B2, D и в меньшей степени к группам E и F, тогда как комменсальные штаммы, считающиеся менее вирулентными, принадлежат преимущественно к филогруппам A или B1 [10].

По результатам многочисленных исследований показана связь между наличием генов вирулентности и филогруппами UPEC [11–13]. Однако количество исследований, направленных на изучение молекулярной характеристики и оценки генотипического разнообразия штаммов UPEC, выделенных при разных проявлениях ИМП (особенно при ББУ), ограничено. Генетические детерминанты вирулентности как критерий оценки и прогноза течения инфекционного процесса в настоящее время не используют. Таким образом, актуальным направлением молекулярно-генетических исследований является изучение патогенного потенциала изолятов UPEC, выделенных при ББУ у беременных женщин, для определения их клинической значимости, а также определение молекулярных основ патогенеза, разработка новых диагностических алгоритмов и эффективных методов лечения.

**Целью** исследования являлась молекулярно-генетическая характеристика UPEC, выделенных при ББУ у беременных.

## Материалы и методы

Клинические изоляты *E. coli* ( $n = 70$ ) выделены из мочи беременных женщин с ББУ, которые наблюдались акушером-гинекологом в НИИ акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д.О. Отта в 2018–2023 гг.

Исследование проводили при добровольном информированном согласии пациенток, протокол исследования одобрен локальным этическим комитетом НИИ акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д.О. Отта (протокол № 114 от 14.12.2021).

Диагноз ББУ был установлен при выделении одного и того же микроорганизма в количестве  $\geq 10^5$  КОЕ/мл в 2 последовательных пробах мочи, взятых с интервалом не менее 24 ч, при отсутствии клинических проявлений ИМП. При выделении более 1 микроорганизма проба исключалась из исследования. Бактериологическое исследование клинического материала проводили с использованием хромогенной питательной среды для выделения возбудителей ИМП (Brilliance UTI Clarity Agar, «Oxoid»). Результаты идентификации подтверждали методом

масс-спектрометрии («MALDI-TOF MS», «Bruker Daltonics»). Хранение культур осуществляли в триптиказо-соевом бульоне с добавлением 30% глицерина при  $-70^{\circ}\text{C}$ .

Экстракцию ДНК проводили с использованием комплекта реагентов «ДНК-сорб АМ» (ЦНИИ Эпидемиологии).

Принадлежность штаммов *E. coli* к филогенетическим группам определяли с помощью quadruplex-полимеразной цепной реакции (ПЦР) согласно О. Clermont и соавт. [9].

Все изоляты были протестированы на 15 маркеров вирулентности: гены, ассоциированные с адгезией (*fimH*, *papC*, *sfa*, *afa*, *focG*); инвазией (*ibeA*), синтезом токсинов (*cnf1*, *hlyA*, *sat*, *vat*, *usp*), сидерофоров (*fyuA*, *iroN*, *iuc*), капсульного антигена (*kpsMIII*). Использовали ранее исследованные праймеры, синтез ПЦР-праймеров выполнен ООО «Синтол» [14–20]. Для ПЦР-амплификации использовали набор реагентов «Tersus plus PCR kit» («Евроген») и термоциклер «Терцик» («ДНК-Технология»). Разделение полученных ампликонов проводили в 2% агарозном геле. Визуализацию и документирование данных осуществляли с использованием гель-документирующей системы «Infinity» («Vilber Lourmat»).

Для оценки статистической значимости различий средних величин применяли точный критерий Фишера. Статистически значимыми считали различия при доверительном интервале (ДИ) 95% ( $p < 0,05$ ).

## Результаты

Филогенетический анализ *E. coli*, выделенных при ББУ у беременных, показал, что достоверно чаще ( $p < 0,05$ ) преобладали клинические изоляты, принадлежащие к филогруппе В2 (51,4%); остальные изоляты относились к филогруппам D, А, В1 и F (табл. 1).

Анализ факторов вирулентности, связанных с адгезией, показал, что ген *fimH* был выявлен у 97,1% изученных штаммов; *papC* — у 34,3%; *sfa* — у 27,1%; *focG* — у 11,4%; *afa* — у 2,9%. Ответственный за инвазию эндотелиальных клеток ген *ibeA* не был обнаружен среди УРЕС, выделенных при ББУ у беременных. Наиболее распространенным геном, кодирующим синтез токсинов, был *vat* (42,9%); гены *hlyA*, *cnf1* и *sat* выявлены у 21,4, 22,9 и 32,9%

изолятов соответственно. Уропатоген-специфичный белок *usp* был обнаружен у 57,1% изолятов. Среди генов, связанных с продукцией сидерофоров, ген *fyuA* был выявлен у 78,6% изолятов, *iroN* — у 48,6%, *iuc* — у 37,1%. Ген, кодирующий синтез капсульного антигена (*kpsMIII*), обнаружен у 65,7% изученных штаммов *E. coli*.

В клинических изолятах УРЕС присутствовали от 1 до 12 генов вирулентности. Ни один из 70 штаммов *E. coli* не содержал все 15 маркеров вирулентности, включённых в исследование. Филогенетическая группа А достоверно чаще была представлена изолятами с 1 (75%) геном вирулентности; остальные штаммы без статистически значимых различий характеризовались сочетанием 2 (12,5%) и 5 (12,5%) генов. Изоляты, принадлежащие к филогенетической группе В1, без статистически значимых различий имели в своём геноме сочетание 2 (33,3%) и 4 (50%) маркеров вирулентности; в геноме 1 (16,7%) штамма выявлен 1 ген вирулентности. Филогенетическая группа В2 характеризовалась наибольшим количеством генов в различных комбинациях (от 5 до 12); достоверно чаще встречались изоляты, содержащие в своём геноме комбинации из 7 (11,1%), 8 (25%), 9 (13,9%), 10 (25%) и 12 (2,8%) генов. Филогенетические группы D и F были представлены изолятами, в которых гены, кодирующие факторы вирулентности, присутствовали без значимых различий в сочетании от 2 до 8 и от 3 до 8 соответственно.

В зависимости от наличия факторов патогенности УРЕС все изоляты были разделены на 6 кластеров (табл. 2).

В геномах 7 изолятов были выявлены генетические детерминанты, кодирующие 1 фактор патогенности (7%; 95% ДИ 4,1–19,5). Частота встречаемости изолятов, содержащих комбинации 4 факторов (62,9%; 95% ДИ 50,0–74,1), статистически достоверно ( $p < 0,0001$ ) отличалась от изолятов, характеризующихся присутствием сочетаний генов, кодирующих 2 и 3 фактора патогенности.

Наибольшее количество генов вирулентности было обнаружено у штаммов, принадлежащих филогруппе В2; в филогруппе D не детектировались гены *focG*, *afa*, *cnf1* и *ibeA*; в филогруппе F обнаружено 8 генов вирулентности, за исключением *afa*, *sfa*, *focG*, *cnf1*, *hlyA*, *vat* и *ibeA* (табл. 3). В филогруппах А и В1 было выявлено наименьшее

**Таблица 1.** Принадлежность к филогенетическим группам изолятов *E. coli*, выделенных при ББУ у беременных  
**Table 1.** Belonging to phylogenetic groups of *E. coli* isolated from pregnant women with asymptomatic bacteriuria

Показатель   Indicator	Филогенетическая группа   Phylogroup				
	A	B1	B2	D	F
Абсолютное количество   Number of isolates	8	6	36	14	6
%	11,4	8,6	51,4	20,0	8,6
95% ДИ   95% CI	5,1–21,3	3,2–17,7	39,2–63,6	11,4–31,3	3,2–17,7

**Таблица 2.** Частота обнаружения факторов патогенности в изолятах UPEC, выделенных при ББУ у беременных  
**Table 2.** Frequency of detection of pathogenicity factors in uropathogenic *E. coli* isolated from pregnant women with asymptomatic bacteriuria

Фактор патогенности   Pathogenicity factor	<i>n</i>	%	95% ДИ   95% CI
Адгезия   Adhesion	7	10	4,1–19,5
Адгезия + сидерофоры   Adhesion + siderophores	11	15,7	8,1–26,4
Адгезия + токсины   Adhesion + toxins	1	1,4	0,04–7,7
Сидерофоры + капсула   Siderophores + capsules	1	1,4	0,04–7,7
Адгезия + сидерофоры + капсулы   Adhesion + siderophores + capsules	2	2,9	0,03–12,6
Адгезия + сидерофоры + токсины   Adhesion + siderophores + toxins	4	5,7	1,8–14,2
Адгезия + сидерофоры + токсины + капсула   Adhesion + siderophores + toxins + capsules	44	62,9	50,5–74,1

разнообразие генов. Статистически значимо чаще ( $p < 0,05$ ) гены вирулентности, ассоциированные с адгезией (*sfa*, *focG*), кодирующие синтез токсинов (*hlyA*, *cnf1*, *vat*, *usp*), сидерофоров (*fyuA*, *iroN*, *hlyA*) и капсул (*kps*), присутствовали в изолятах филогенетической группы B2, по сравнению с изолятами других филогенетических групп. Статистически достоверные различия выявлены в частоте встречаемости гена *kps* ( $p < 0,01$ ) у изолятов UPEC, принадлежащих к филогенетической группе A; генов *vat* ( $p < 0,05$ ) и *usp* ( $p < 0,001$ ), принадлежащих к филогенетической группе D.

## Обсуждение

Исследования молекулярно-генетической характеристики уропатогенных *E. coli*, результаты которых в настоящее время доступны для анализа, основывались на оценке патогенного потенциала штаммов, выделенных при ИМП. Учитывая значимое влияние бессимптомной бактериурии на развитие осложнений беременности, мы провели исследование, направленное на изучение штаммов *E. coli*, выделенных у пациенток с данной патологией.

Клинические изоляты *E. coli*, выделенные при ББУ у беременных, принадлежали к 5 филогенети-

**Таблица 3.** Встречаемость генов вирулентности в разных филогенетических группах клинических изолятов *E. coli*, выделенных при ББУ у беременных

**Table 3.** Occurrence of virulence genes in *E. coli* of various phylogenetic groups isolated from pregnant women with asymptomatic bacteriuria

Фактор вирулентности Virulence factors	Ген Gen	Частота встречаемости генов, <i>n</i> (%)   Frequency of gene occurrence, <i>n</i> (%)				
		A ( <i>n</i> = 8)	B1 ( <i>n</i> = 6)	B2 ( <i>n</i> = 36)	D ( <i>n</i> = 14)	F ( <i>n</i> = 6)
Адгезины   Adhesins	<i>papC</i>	0	0	15 (41,7%)	5 (35,7%)	4 (66,7%)
	<i>afa</i>	0	0	2 (5,6%)	0	0
	<i>fimH</i>	8 (100,0%)	6 (10,0%)	36 (100,0%)	13 (92,8%)	6 (100,0%)
	<i>sfa</i>	0	0	18**** (50,0%)	1 (7,1%)	0
	<i>focG</i>	0	0	8*** (22,2%)	0	0
Инвазины   Invasins	<i>ibeA</i>	0	0	0	0	0
	<i>fyuA</i>	2 (25,%)	4 (66,7%)	33*** (91,7%)	12 (85,7%)	4 (66,7%)
Сидерофоры   Siderophore	<i>iroN</i>	0	4 (66,7%)	25**** (69,4%)	3 (21,4%)	2 (33,3%)
	<i>iuc</i>	1 (12,5%)	3 (50,0%)	14 (38,9%)	4 (28,5%)	4 (66,7%)
	<i>hlyA</i>	0	0	14**** (38,9%)	1 (7,1%)	0
	<i>cnf1</i>	0	0	16**** (44,4%)	0	0
Токсины   Toxins	<i>sat</i>	1 (12,5%)	0	14 (38,9%)	7 (50,0%)	2 (33,3%)
	<i>vat</i>	0	0	30**** (83,3%)	2* (14,3%)	0
	<i>usp</i>	0	0	36**** (100,0%)	1**** (7,1%)	3 (50,0%)
Капсула   Capsules	<i>kpsMIII</i>	1** (12,5%)	0	32**** (88,9%)	9 (64,3%)	4 (66,7%)

**Примечание.** – частота встречаемости гена в группе или подгруппе меньше частоты встречаемости этого же гена в общей выборке; \* — частота встречаемости гена в группе или подгруппе выше частоты встречаемости этого же гена в общей выборке. \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$ .

**Note.** – the frequency of gene occurrence in the group is lower than the frequency of occurrence of the same gene in the overall sample; \* — the frequency of gene occurrence in the group is higher than the frequency of occurrence of the same gene in the overall sample.

\* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$ .

ческим группам (A, B1, B2, D и F). Было показано, что доминирующими филогруппами были B2 и D (в меньшей степени) — 51,4 и 20% соответственно, что согласуется с результатами других исследований [10]. Согласно расширенной классификации O. Clermont (2013), филогруппа F является подгруппой филогруппы B2, а *E. coli*, принадлежащие к этой группе, также считаются уропатогенными. В нашем исследовании 8,6% изолятов, выделенных при ББУ, были отнесены к этой филогруппе. Также были обнаружены *E. coli*, принадлежащие к филогенетическим группам A (11,4%) и B1 (8,6%), которые ассоциируются с комменсальными изолятами; это позволяет предположить, что основным резервуаром *E. coli*, которые способны колонизировать мочевые пути, является кишечник.

Факторы адгезии играют ключевую роль в патогенезе ИМП, облегчая прикрепление *E. coli* к уроэпителию. В целом факторы адгезии в нашем исследовании были обнаружены изолированно или в различных сочетаниях у 69 (98,6%) изолятов, что подтверждает роль адгезинов как одного из основных факторов у вирулентности. Согласно многочисленным исследованиям, ген *fimH* является наиболее распространённым геном адгезии, кодирующим фимбрию 1-го типа, что было подтверждено и результатами нашего исследования — ген *fimH* был обнаружен у большинства изолятов (97,1%). Важное значение в патогенезе ИМП, особенно у беременных, играют факторы вирулентности, ассоциированные с развитием восходящей инфекции (пиелонефрита). Ген *rapC* (пиелонефрит-ассоциированные пили) и афимбриальные *afa*-адгезины (ассоциирован с развитием гестационного пиелонефрита) в нашем исследовании были обнаружены у 34,3 и 2,9% изолятов соответственно. Распространённость генов, кодирующих фимбриальные адгезины *sfa* и *focG*, которые экспрессируются штаммами, вызывающими менингит, сепсис и пиелонефрит, составила 34,7 и 12,9% соответственно. Результаты аналогичных исследований по изучению генетических детерминант вирулентности UPEC, выделенной при ББУ, свидетельствуют о более низкой распространённости генов *rapC* (от 12,9 до 20,6%), *sfa* (от 8,1 до 16,9%), но о большей частоте выявления генов *afa* (34,9%) и *focG* (35,1%) [19, 21, 22].

МВП могут быть источником NMES, который является одной из наиболее распространённых инфекций с высокой заболеваемостью и смертностью в неонатальном периоде [23]. Ген *ibeA*, являющийся одним из важных факторов вирулентности NMES и ответственный за инвазию эндотелиальных клеток, не был обнаружен среди изолятов *E. coli*, выделенных при ББУ у беременных.

Для UPEC характерно наличие уропатоген-специфичного белка — бактериоциноподобного токсина, ассоциированного с развитием пиело-

нефрита и бактериемии. Появление этого маркера вирулентности часто связано с увеличением вирулентности штамма и его выживаемости в МВП. Результаты нашего исследования показали более высокую частоту обнаружения гена *usp* (57,1%) по сравнению с результатами аналогичных исследований, где частота детекции гена *usp* у UPEC, выделенных при ББУ, составила 22,6–34,4% [19, 21].

Токсинообразование характерно для штаммов *E. coli*, ответственных за более тяжёлые формы заболевания (пиелонефрит, уросепсис). Гены *hlyA* и *cnf1*, ассоциированные с синтезом токсинов, были обнаружены у 68,2 и 63,6% изолятов, выделенных при пиелонефрите; у 19,4 и 25,8% — выделенных при ББУ [21]. Результаты нашего исследования продемонстрировали аналогичную картину — гены *hlyA* и *cnf1* были выявлены у 21,4 и 22,9% изолятов, выделенных при ББУ у беременных. Секретируемый аутотранспортный токсин (*sat*) также является фактором вирулентности, характерным для UPEC, выделенных при пиелонефрите. В нашем исследовании частота обнаружения гена *sat* составила 32,9%, что значительно выше, чем в работе L. Maniam и соавт. (7,5%) [19]. Ген *vat* встречается более чем у половины изолятов *E. coli*, выделенных при цистите и пиелонефрите [24]. В нашем исследовании ген *vat* был обнаружен у 42,9% изолятов *E. coli*, выделенных при ББУ.

Продукция сидерофоров, играющих важную роль в захвате железа, повышает жизнеспособность микроорганизмов внутри уретрального тракта. Присутствие этих факторов вирулентности у UPEC, по-видимому, компенсирует отсутствие других генов вирулентности, связанных с адгезией и токсинообразованием, и таким образом способствует длительной колонизации в МВП, не вызывая воспалительного ответа у хозяина. В проведённом исследовании в геноме были выявлены гены, ответственные за синтез иерсинибактина (*fyuA*) — 78,6% изолятов, сальмокселина (*iroN*) — 48,6% и аэробактина (*iuc*) — 37,1%.

Капсула выполняет защитную роль от иммунной системы хозяина, что способствует длительной персистенции в МВП. Ген *kpsMII* был выявлен нами в 65,7% изолятов, выделенных при ББУ. В аналогичных исследованиях было показано, что частота данного гена варьировала от 38 до 73% [19, 22].

Присутствие в геноме отдельных генов вирулентности не является достаточным для реализации уропатогенного потенциала. Многие исследования свидетельствуют о том, что в бактериях присутствуют сразу несколько факторов вирулентности [21, 25]. Полученные нами данные также свидетельствуют о генетическом разнообразии UPEC, выделенных при ББУ. Результаты количественного распределения факторов вирулентности в филогенетических группах показали, что у 90% изолятов *E. coli* были выявлены 2 и более маркера вирулент-

ности. *E. coli*, относящиеся к филогруппам B2, D, E и F, ассоциированные с УРЕС, содержали большее количество генов вирулентности, чем филогруппы А и В1, ассоциированные с комменсальными штаммами. Кроме того, *E. coli*, принадлежащие филогенетической группе B2, обладали наибольшим количеством генов в различных комбинациях (от 5 до 12); достоверно чаще ( $p < 0,05$ ) были обнаружены гены, ассоциированные с адгезией (*sfa*, *focG*), синтезом сидерофоров (*fyuA*, *iroN*, *iuc*), токсинов (*hlyA*, *cnf1*, *vat*, *usp*) и капсул (*kpsMIII*).

На экспрессию факторов вирулентности и способность к адаптации изолятов УРЕС к персистенции в МВП могут влиять многочисленные факторы (иммунный ответ, способность к образованию биоплёнок). При сравнении вирулентных свойств УРЕС, выделенных при ББУ и при симптоматических ИМП (цистит, пиелонефрит) у беременных, показано, что изоляты *E. coli*, выделенные при ББУ и цистите, демонстрировали сопоставимые показатели вирулентности [22]. Определение большого количества генов вирулентности в изоляте, по мнению исследователей, может свидетельствовать об уропатогенном потенциале возбудителя, а способность к проявлению зависит от экспрессии данного гена или совокупности генов.

### Заключение

Изучение молекулярной характеристики и оценки генотипического разнообразия штаммов *E. coli* необходимо для лучшего понимания их роли в патогенезе ИМП. Определение ключевых детерминант вирулентности и/или комбинации генов вирулентности может быть маркером для прогнозирования течения ИМП, особенно у беременных, и позволит расширить возможности диагностики с учётом вирулентных свойств уропатогена.

### СПИСОК ИСТОЧНИКОВ | REFERENCES

- Medina M., Castillo-Pino E. An introduction to the epidemiology and burden of urinary tract infections. *Ther. Adv. Urol.* 2019;11:1756287219832172. DOI: <https://doi.org/10.1177/1756287219832172>
- Kot B. Antibiotic resistance among uropathogenic *Escherichia coli*. *Pol. J. Microbiol.* 2019;68(4):403–15. DOI: <https://doi.org/10.33073/pjm-2019-048>
- Никифоровский Н.К., Степанькова Е.А., Сухорукова А.О. Инфекции мочевыводящих путей у беременных (обзор). *Сибирский научный медицинский журнал.* 2020;40(5):18–23. Nikiforovsky N.K., Stepankova E.A., Suhorukova A.O. Urinary tract infections in pregnancy (review). *Siberian Scientific Medical Journal.* 2020;40(5):18–23. DOI: <https://doi.org/10.15372/SSMJ20200502> EDN: <https://elibrary.ru/oomnqj>
- Smaill F.M., Vazquez J.C. Antibiotics for asymptomatic bacteriuria in pregnancy. *Cochrane. Database Syst. Rev.* 2019;2019(11):CD000490. DOI: <https://doi.org/10.1002/14651858.CD000490.pub4>
- Storme O., Tirán Saucedo J., Garcia-Mora A., et al. Risk factors and predisposing conditions for urinary tract infection. *Ther. Adv. Urol.* 2019;11:1756287218814382. DOI: <https://doi.org/10.1177/1756287218814382>
- Заячникова Т.Е., Селезнева Н.С. Отдаленные последствия применения антибиотиков в перинатальном периоде. *Лекарственный вестник.* 2021;15(3):56–63. Zayachnikova T.E., Selezneva N.S. Long-term consequences of the use of antibiotics in the perinatal period. *Medicinal Bulletin.* 2021;15(3):56–63. EDN: <https://elibrary.ru/myypir>
- Sora V.M., Meroni G., Martino P.A., et al. Extraintestinal pathogenic *Escherichia coli*: virulence factors and antibiotic resistance. *Pathogens.* 2021;10(11):1355. DOI: <https://doi.org/10.3390/pathogens10111355>
- 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>
- Clermont O., Christenson J.K., Denamur E., et al. The Clermont *Escherichia coli* phylo-typing method revisited: improvement of specificity and detection of new phylogroups. *Environ. Microbiol. Rep.* 2013;5(1):58–65. DOI: <https://doi.org/10.1111/1758-2229.12019>
- Halaji M., Fayyazi A., Rajabnia M., et al. Phylogenetic group distribution of uropathogenic *Escherichia coli* and related antimicrobial resistance pattern: a meta-analysis and systematic review. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 2022;12:790184. DOI: <https://doi.org/10.3389/fcimb.2022.790184>
- Rezatofighi S.E., Mirzarazi M., Salehi M. Virulence genes and phylogenetic groups of uropathogenic *Escherichia coli* isolates from patients with urinary tract infection and uninfected control subjects: a case-control study. *BMC Infect. Dis.* 2021;21(1):361. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12879-021-06036-4>
- 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):72–9. 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):72–9. DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-493>
- 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>
- 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>
- Basu S., Mukherjee S.K., Hazra A., et al. Molecular characterization of uropathogenic *Escherichia coli*: nalidixic acid and ciprofloxacin resistance, virulent factors and phylogenetic background. *J. Clin. Diagn. Res.* 2013;7(12):2727–31. DOI: <https://doi.org/10.7860/JCDR/2013/6613.3744>
- Yun K.W., Kim H.Y., Park H.K., et al. Virulence factors of uropathogenic *Escherichia coli* of urinary tract infections and asymptomatic bacteriuria in children. *J. Microbiol. Immunol.*

- Infect.* 2014;47(6):455–61.  
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jmii.2013.07.010>
17. Farajzadah Sheikh A., Goodarzi H., Yadyad M.J., et al. Virulence-associated genes and drug susceptibility patterns of uropathogenic *Escherichia coli* isolated from patients with urinary tract infection. *Infect. Drug Resist.* 2019;12:2039–47.  
DOI: <https://doi.org/10.2147/IDR.S199764>
18. Momtaz H., Karimian A., Madani M., et al. Uropathogenic *Escherichia coli* in Iran: serogroup distributions, virulence factors and antimicrobial resistance properties. *Ann. Clin. Microbiol. Antimicrob.* 2013;12:8.  
DOI: <https://doi.org/10.1186/1476-0711-12-8>
19. Maniam L., Vellasamy K.M., Jindal H.M., et al. Demonstrating the utility of *Escherichia coli* asymptomatic bacteriuria isolates' virulence profile towards diagnosis and management — a preliminary analysis. *PLoS One.* 2022;17(5):e0267296.  
DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0267296>
20. Spurbeck R.R., Dinh P.C. Jr., Walk S.T., et al. *Escherichia coli* isolates that carry *vat*, *fyuA*, *chuA*, and *yfcV* efficiently colonize the urinary tract. *Infect. Immun.* 2012;80(12):4115–22.  
DOI: <https://doi.org/10.1128/IAI.00752-12>
21. Tabasi M., Karam M.R., Habibi M., et al. Genotypic characterization of virulence factors in *Escherichia coli* isolated from patients with acute cystitis, pyelonephritis and asymptomatic bacteriuria. *J. Clin. Diagn. Res.* 2016;10(12):DC01–DC07.  
DOI: <https://doi.org/10.7860/JCDR/2016/21379.9009>
22. Lavigne J.P., Boutet-Dubois A., Laouini D., et al. Virulence potential of *Escherichia coli* strains causing asymptomatic bacteriuria during pregnancy. *J. Clin. Microbiol.* 2011;49(11):3950–3.  
DOI: <https://doi.org/10.1128/JCM.00892-11>
23. Zainel A., Mitchell H., Sadarangani M. Bacterial meningitis in children: neurological complications, associated risk factors, and prevention. *Microorganisms.* 2021;9(3):535.  
DOI: <https://doi.org/10.3390/microorganisms9030535>
24. Parham N.J., Pollard S.J., Desvaux M., et al. Distribution of the serine protease autotransporters of the *Enterobacteriaceae* among extraintestinal clinical isolates of *Escherichia coli*. *J. Clin. Microbiol.* 2005;43(8):4076–82.  
DOI: <https://doi.org/10.1128/JCM.43.8.4076-4082.2005>
25. Oliveira F.A., Paludo K.S., Arend L.N., et al. Virulence characteristics and antimicrobial susceptibility of uropathogenic *Escherichia coli* strains. *Genet. Mol. Res.* 2011;10(4):4114–25.  
DOI: <https://doi.org/10.4238/2011.October.31.5>

#### Информация об авторах

**Хуснутдинова Татьяна Алексеевна** — к.м.н., с.н.с. отдела медицинской микробиологии НИИ акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д.О. Отта, Санкт-Петербург, Россия, [husnutdinovat@yandex.ru](mailto:husnutdinovat@yandex.ru), <https://orcid.org/0000-0002-2742-2655>

**Будиловская Ольга Викторовна** — к.м.н., с.н.с. отдела медицинской микробиологии НИИ акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д.О. Отта, Санкт-Петербург, Россия, <https://orcid.org/0000-0001-7673-6274>

**Крысанова Анна Александровна** — к.м.н., с.н.с. отдела медицинской микробиологии НИИ акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д.О. Отта, Санкт-Петербург, Россия, <https://orcid.org/0000-0003-4798-1881>

**Шалепо Кира Валентиновна** — к.б.н., с.н.с. отдела медицинской микробиологии НИИ акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д.О. Отта, Санкт-Петербург, Санкт-Петербург, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-3002-3874>

**Синякова Анна Александровна** — к.м.н., н.с. отдела акушерства и перинатологии НИИ акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д.О. Отта, Санкт-Петербург, Россия, <https://orcid.org/0000-0003-3094-665X>

**Савичева Алевтина Михайловна** — д.м.н., профессор, зав. отделом медицинской микробиологии НИИ акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д.О. Отта, Санкт-Петербург, Россия, <https://orcid.org/0000-0003-3870-5930>

**Коган Игорь Юрьевич** — д.м.н., профессор, чл.-корр. РАН, директор НИИ акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д.О. Отта, Санкт-Петербург, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-7351-6900>

**Участие авторов:** Хуснутдинова Т.А. — методология и дизайн исследования, проведение исследования, анализ и интерпретация результатов, написание рукописи; Будиловская О.В., Крысанова А.А., Шалепо К.В. — анализ и интерпретация результатов исследования, участие в подготовке рукописи; Синякова А.А. — сбор данных, участие в подготовке рукописи; Савичева А.М. — методология и дизайн исследования, концептуализация и координация исследования, редактирование рукописи; Коган И.Ю. — концептуализация исследования, редактирование рукописи. Все авторы подтверждают соответствие своего авторства критериям ICMJE, внесли существенный вклад в проведение поисково-аналитической работы и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию до публикации.

#### Information about the authors

**Tatiana A. Khusnutdinova** — Cand. Sci. (Med.), senior researcher, Department of medical microbiology, D.O. Ott Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology, Saint Petersburg, Russia, [husnutdinovat@yandex.ru](mailto:husnutdinovat@yandex.ru), <https://orcid.org/0000-0002-2742-2655>

**Olga V. Budilovskaya** — Cand. Sci. (Med.), senior researcher, Department of medical microbiology, D.O. Ott Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology, Saint Petersburg, Russia, <https://orcid.org/0000-0001-7673-6274>

**Anna A. Krysanova** — Cand. Sci. (Med.), senior researcher, Department of medical microbiology, D.O. Ott Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology, Saint Petersburg, Russia, <https://orcid.org/0000-0003-4798-1881>

**Kira V. Shalepo** — Cand. Sci. (Med.), senior researcher, Department of medical microbiology, D.O. Ott Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology, Saint Petersburg, Russia, [2474151@mail.ru](mailto:2474151@mail.ru), <https://orcid.org/0000-0002-3002-3874>

**Anna A. Sinyakova** — Cand. Sci. (Med.), senior researcher, Department of obstetrics and perinatology, D.O. Ott Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology, Saint Petersburg, Russia, <https://orcid.org/0000-0003-3094-665X>

**Alevtina M. Savicheva** — D. Sci. (Med.), Professor, Head, Department of medical microbiology, D.O. Ott Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology, Saint Petersburg, Russia, <https://orcid.org/0000-0003-3870-5930>

**Igor Yu. Kogan** — D. Sci. (Med.), Professor, RAS Corresponding Member, Director, D.O. Ott Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology, Saint Petersburg, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-7351-6900>

**Author contribution:** Khusnutdinova T.A. — research methodology and design, conducting the study; analysis and interpretation of the results, writing the manuscript; Budilovskaya O.V., Krysanova A.A., Shalepo K.V. — analysis and interpretation of the results, participation in the preparation of the manuscript; Sinyakova A.A. — data collection, participation in the preparation of the manuscript, Savicheva A.M. — research methodology and design, conceptualization and coordination of the study, editing the manuscript; Kogan I. Yu. — conceptualization of the study, editing the manuscript. 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.