

DOI: 10.21055/0370-1069-2019-4-56-60

УДК 616.98:579.842.11(470.44)

А.В. Казанцев^{1,2}, Н.А. Осина¹, Т.О. Глинская³, О.Н. Кошелева³, Ю.В. Максимов³, З.Л. Девдариани¹,
А.Н. Микеров²**ФАКТОРЫ ВИРУЛЕНТНОСТИ И ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА УРОПАТОГЕННЫХ ШТАММОВ *ESCHERICHIA COLI*, ВЫДЕЛЕННЫХ НА ТЕРРИТОРИИ г. САРАТОВА**¹ФКУЗ «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», Саратов, Российская Федерация; ²ФГБОУ ВО «Саратовский государственный медицинский университет им. В.И. Разумовского» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Саратов, Российская Федерация; ³ГУЗ «Саратовская городская клиническая больница № 8», Саратов, Российская Федерация

Цель. Молекулярно-генетическая характеристика штаммов уропатогенных *Escherichia coli*, выделенных из мочи пациентов с инфекциями мочевыводящих путей на территории Саратова, с целью определения принадлежности к филогенетическим группам и подгруппам и выявления генетических маркеров, ассоциированных с вирулентностью. **Материалы и методы.** Исследовано 102 штамма уропатогенных *E. coli*, выделенных из мочи пациентов с инфекциями мочевыводящих путей. Методом ПЦР определяли частоту встречаемости генов (*fimH*, *pap*, *sfa*, *afa*, *iha*, *irp2*, *iuc*, *iroN*, *hlyA*, *vat*, *usp*, *set-1*, *kpsMT*, *iss*, *cva*, *ompT*), ассоциированных с факторами адгезии, утилизации железа, токсигенности, устойчивости к действию сыворотки (комплемента) и персистенции, а также принадлежность к конкретным филогенетическим группам и подгруппам (путем амплификации генов *chuA*, *yjaA* и TspE4.C2). **Результаты и обсуждение.** Установлено, что исследованные штаммы *E. coli* принадлежали к различным филогенетическим группам и подгруппам (A₁, B1, B2₃, D₁ и D₂) и различались набором генов, кодирующих основные факторы вирулентности. При этом частота выявления уропатогенных *E. coli*, относящихся к подгруппе B2₃, оказалась преобладающей. Более того, штаммы данной филогенетической подгруппы отличались наибольшим набором генов, кодирующих факторы вирулентности возбудителя. У всех изученных штаммов уропатогенных *E. coli*, принадлежащих к различным филогенетическим группам и подгруппам, выявлено наличие генов, ответственных за синтез сидерофоров (*irp2*, *iuc*, *iroN*), устойчивости и персистенции (*ompT*) и факторов адгезии (*fimH*, *iha*). Таким образом, штаммы уропатогенных *E. coli*, выделенные от пациентов с инфекциями мочевыводящих путей в Саратове, принадлежат к различным филогенетическим группам и подгруппам и обладают различным набором генетических маркеров вирулентности, что может оказывать влияние на степень патогенности возбудителя и отражаться на тяжести течения и длительности заболевания.

Ключевые слова: уропатогенные *Escherichia coli*, факторы вирулентности, филогенетическая характеристика.

Корреспондирующий автор: Казанцев Андрей Васильевич, e-mail: rusrap1@microbe.ru.

Для цитирования: Казанцев А.В., Осина Н.А., Глинская Т.О., Кошелева О.Н., Максимов Ю.В., Девдариани З.Л., Микеров А.Н. Факторы вирулентности и филогенетическая характеристика уропатогенных штаммов *Escherichia coli*, выделенных на территории г. Саратова. Проблемы особо опасных инфекций. 2019; 4:56–60. DOI: 10.21055/0370-1069-2019-4-56-60.

A.V. Kazantsev^{1,2}, N.A. Osina¹, T.O. Glinskaya³, O.N. Kosheleva³, Yu.V. Maksimov³, Z.L. Devdariani¹,
A.N. Mikerov²**Virulence Factors and Phylogenetic Characteristics of Uropathogenic *Escherichia coli* Strains Isolated in Saratov**¹Russian Research Anti-Plague Institute «Microbe», Saratov, Russian Federation; ²V.I. Razumovsky Saratov State Medical University, Saratov, Russian Federation; ³Saratov City Clinical Hospital No 8, Saratov, Russian Federation

Abstract. Objective of this study was the molecular genetic characteristics of uropathogenic strains of *Escherichia coli*, isolated from urine of patients with urinary tract infections in Saratov City, in order to determine the phylogenetic groups and subgroups to which the strains belong, and to identify the genetic markers associated with virulence. **Materials and methods.** Molecular genetic characteristics of 102 strains of uropathogenic *E. coli* which were isolated from urine of patients with urinary tract infections, was performed. PCR was used to determine the frequency of occurrence of genes (*fimH*, *pap*, *sfa*, *afa*, *iha*, *irp2*, *iuc*, *iroN*, *hlyA*, *vat*, *usp*, *set-1*, *kpsMT*, *iss*, *cva*, *ompT*) associated with factors of adhesion, iron intake, toxigenicity, resistance to action of serum (complement) and persistence, as well as belonging of studied strains to the specific phylogenetic groups and subgroups (by amplification of genes *chuA*, *yjaA* and TspE4.C2). **Results and discussion.** It was revealed that *E. coli* strains isolated from patients with urinary tract infections in Saratov city belonged to different phylogenetic groups and subgroups (A₁, B1, B2₃, D₁ и D₂) and differed in their set of genes, which encode the basic virulence factors. At the same time, detection of uropathogenic *E. coli* which belong to the B2₃ subgroup was the most frequent. Moreover, the strains of this phylogenetic subgroup differed from others in the largest set of genes which encode virulence factors of the etiological agent. In all studied strains of uropathogenic *E. coli* which belong to different phylogenetic groups and subgroups the presence of genes responsible for the synthesis of siderophores (*irp2*, *iuc*, *iroN*), resistance and persistency (*ompT*) and adhesion factors (*fimH*, *iha*) was revealed. Therefore, strains of uropathogenic *E. coli* isolated from patients with urinary tract infections in Saratov city belong to different phylogenetic groups and subgroups and have a different set of genetic markers of virulence that can affect the degree of pathogenicity of the etiological agent, and the course of the disease.

Key words: uropathogenic *Escherichia coli*, virulence factors, phylogenetic characteristics.

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

Corresponding author: Andrei V. Kazantsev, e-mail: rusrapi@microbe.ru.

Citation: Kazantsev A.V., Osina N.A., Glinskaya T.O., Kosheleva O.N., Maksimov Yu.V., Devdariani Z.L., Mikerov A.N. Virulence Factors and Phylogenetic Characteristics of Uropathogenic *Escherichia coli* Strains Isolated in Saratov. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2019; 4:56–60. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2019-4-56-60

Received 09.12.19. Revised 12.12.19. Accepted 20.12.19.

Escherichia coli – комменсальный микроорганизм, населяющий нижние отделы кишечника человека и животных. Однако некоторые штаммы *E. coli* могут вызывать заболевания как кишечной, так и внекишечной локализации. Например, внекишечные патогенные *E. coli*, ExPEC (extraintestinal pathogenic *E. coli*), наиболее часто вызывают такие заболевания внекишечной локализации, как инфекции мочевыводящих путей (ИМП). Основным этиологическим агентом ИМП является уропатогенная *E. coli* (УПЭК). При бактериологическом исследовании мочи у пациентов с ИМП данный микроорганизм выделяется в 50–90 % случаев [1, 2]. По данным литературы, вирулентность УПЭК при ИМП связывалась с наличием у них адгезинов, систем захвата и утилизации ионов железа (сидерофоры), токсинов, а также механизмов, позволяющих противостоять иммунной защите макроорганизма [3, 4].

Штаммы *E. coli* принадлежат к четырем основным филогенетическим группам – A, B1, B2 и D. Внутри групп A, B2 и D выделяют подгруппы – A₀ и A₁, B2₂ и B2₃, D₁ и D₂ соответственно [5, 6]. При этом разделение на группы и подгруппы проводят на основании наличия или отсутствия в геноме возбудителя генов *chuA*, *yjaA* и TspE4.C2 [5, 6]. Согласно данным литературы [7], штаммы *E. coli*, вызывающие заболевания кишечной локализации, обычно принадлежат к филогенетическим группам A, B1 и D, тогда как представители патотипа ExPEC, в который включены УПЭК, чаще принадлежат к филогенетической группе B2 и реже – к группе D.

Изучение принадлежности штаммов УПЭК, циркулирующих на определенной территории, к конкретным филогенетическим группам и подгруппам, а также изучение факторов вирулентности возбудителя, необходимы для лучшего понимания патогенеза ИМП и, соответственно, улучшения качества лечения пациентов с ИМП. Однако на территории Саратовской области такие исследования до сих пор не проводились.

Цель работы – молекулярно-генетическая характеристика штаммов уропатогенных *Escherichia coli*, выделенных из мочи пациентов с инфекциями мочевыводящих путей на территории Саратова, для определения принадлежности к филогенетическим группам и подгруппам и выявления генетических маркеров, ассоциированных с вирулентностью.

Материалы и методы

Культуры бактерий *E. coli* выделяли из средней порции мочи от 102 пациентов (женщин –

72 %, мужчин – 28 %) с ИМП, находящихся на стационарном лечении в урологических отделениях Государственного учреждения здравоохранения «Саратовская городская клиническая больница № 8» (ГУЗ «СГКБ № 8») в период 2017–2018 гг. Все клинические штаммы УПЭК (102 штамма) выделяли в клинично-диагностической лаборатории ГУЗ «СГКБ № 8» из мочи пациентов со степенью бактериурии $\geq 10^5$ КОЕ/мл. Данное исследование одобрено на заседании этической комиссии ФГБОУ ВО «Саратовский ГМУ им. В.И. Разумовского» (протокол № 9 от 07.06.2016 г.). От всех пациентов, ставших объектами исследования, получено информированное согласие.

Расширенную идентификацию выделенных штаммов УПЭК проводили на базе ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб» с использованием автоматического микробиологического анализатора VITEK 2 Compact (Bio-Merieux, Франция) и применением карт VITEK 2 Gram-Negative identification card (GN). После идентификации, культуры *E. coli* хранили в протеозопептоне (HiMedia Laboratories Pvt. Ltd., Индия) с 50 % глицерина при температуре -40 °C до начала исследования.

Выделение ДНК осуществляли с использованием комплекта реагентов «ДНК-сорб-В» («ИнтерЛабСервис», Россия) согласно прилагаемой инструкции производителя. Для постановки ПЦР использовали полученные препараты ДНК в концентрации 1 нг/мкл. Последовательности праймеров, использованных в данной работе для амплификации фрагментов генов *fimH*, *chuA*, *yjaA* и участка ДНК TspE4.C2, описаны ранее в работе K.W. Yan *et al.* [8], а последовательности праймеров для амплификации фрагментов генов *pap*, *sfa*, *afa*, *iha*, *irp2*, *iuc*, *iroN*, *hlyA*, *vat*, *usp*, *set-1*, *kpsMT*, *iss*, *cva*, *ompT* – в работе Н. Momtaz *et al.* [9]. При проведении ПЦР использовали 10-кратный ПЦР буфер Б (ЗАО «Синтол», Россия), 25 мМоль раствор дНТФ (ЗАО «Синтол», Россия), 25 мМоль раствор MgCl₂ (ЗАО «Синтол», Россия), SynTaq ДНК-полимеразу (ЗАО «Синтол», Россия). Реакционная смесь для проведения реакции включала одну из 19 пар праймеров в концентрации 12 пМоль каждого, 0,2 мМоль дНТФ, 2 мМоль MgCl₂, 2 ед. ДНК-полимеразы, 10 мкл препарата ДНК. Деионизированную воду (Thermo Fisher Scientific, США) добавляли в реакционную смесь до конечного объема 25 мкл.

Определение принадлежности штаммов УПЭК к филогенетическим группам осуществляли на основании результатов амплификации фрагментов генов *chuA* и *yjaA*, а также фрагмента ДНК TspE4.C2 [5, 6].

Амплификацию проводили в термоциклере Mastercycler nexus (Eppendorf, Германия) по следующей программе: денатурация 95 °C в течение 5 мин с последующими 35 циклами, каждый из которых состоял из денатурации при 95 °C в течение 30 с, отжига праймеров при определенной температуре в течение 30 с, элонгации при 72 °C в течение 30 с; конечное удлинение при 72 °C в течение 5 мин. Температура отжига праймеров, составила: *iuc* – 52 °C, *set-1* – 54 °C, *vat* – 55 °C; *iss* – 56 °C; *irp2*, *kpsMT* – 58 °C; *ompT* – 59 °C; *cva*, *usp*, *chuA* – 60 °C; *yjaA* – 61 °C; TspE4.C2, *hlyA* – 62 °C; *iroN*, *pap*, *fimH* – 63 °C; *sfa*, *iha* – 64 °C; *afa* – 65 °C. Для подтверждения наличия ожидаемых продуктов ПЦР по завершении амплификации 10 мкл образца каждой ПЦР-реакции подвергали электрофорезу в 2 % агарозном геле, содержащем бромид этидия. Визуализацию полученных результатов проводили с использованием геледокументирующей системы Gel Doc XR+ (Bio-Rad Laboratories, США) при УФ-флуоресценции путем сопоставления треков полученных образцов с маркерами молекулярных масс – 50 bp DNA Ladder, 100 bp DNA Ladder, 123 bp DNA Ladder, 250 bp DNA Ladder (Thermo Fisher Scientific, США).

Статистическую обработку результатов проводили с использованием критерия χ^2 с поправкой Йейтса с помощью программы SigmaStat (версия 3.5; Dundas software LTD., Германия и TE Sub Systems, Inc.). Различия считались достоверными, если $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

На первом этапе работы определена принадлежность изучаемых штаммов УПЭК к филогенетическим группам и подгруппам (таблица). В ходе анализа обнаружено, что в 52,9 % случаев (54 штамма) выделенные микроорганизмы принадлежали к подгруппе B₂ (*chuA*⁺ *yjaA*⁺ TspE4.C2⁺), в 16,7 % случаев (17 штаммов) – к подгруппе A₁ (*chuA*⁺ *yjaA*⁺ TspE4.C2⁻), в 10,8 % случаев (по 11 штаммов) – к подгруппе D₂ (*chuA*⁺ *yjaA*⁻ TspE4.C2⁺) или к группе B1 (*chuA*⁻ *yjaA*⁻ TspE4.C2⁺), а в 8,8 % случаев (9 штаммов) – к подгруппе D₁ (*chuA*⁺ *yjaA*⁻ TspE4.C2⁻). При этом в изучаемой выборке штаммов УПЭК филогенетические подгруппы A₀ и B₂ не выявлены. Таким образом, в исследуемой выборке штаммов УПЭК выявлено превалирование филогенетической подгруппы B₂, что соответствует литературным данным по исследованию частоты встречаемости данной подгруппы среди культур *E. coli*, выделенных из мочи пациентов с ИМП [4].

У штаммов филогенетических групп B2 и D, которые наиболее часто принадлежат к УПЭК, выявлено наличие определенного набора факторов вирулентности, способствующих выживанию, колонизации и персистенции возбудителя в мочевыводящих путях [4, 10, 11]. В данной работе гены, кодирующие основные факторы вирулентности штаммов УПЭК,

являющихся возбудителями ИМП, распределены среди четырех групп, как описано ниже, на основании общепринятых литературных данных [12–15]. В связи с этим определено наличие у исследуемых штаммов генов *fimH*, *sfa*, *pap*, *afa* и *iha*, ассоциированных с адгезией и кодирующих соответственно фимбрии I типа, S-фимбрии, P-фимбрии, афимбриальный и негемагглютинирующий адгезин (гомолог адгезина IrgA *E. coli* O157:H7); генов *kpsMT*, *iss*, *ompT* и *cva*, ассоциированных с персистенцией и кодирующих капсульный липолисахарид К-антиген (II группа), фактор устойчивости к действию сыворотки (комплемента), протеазу наружной мембраны и колицины V соответственно; генов *iroN*, *iuc*, *irp2*, отвечающих за синтез компонентов системы утилизации железа – сидерофоров энтеробактина (сальмохелина), аэробактина и иерсиниабактина соответственно; генов *hlyA*, *usp*, *vat* и *set-1*, определяющих секрецию токсинов и белков – α -гемолизина, уropатогенного специфического белка, вакуолизирующего автотранспортного токсина и Шигелла-энтеротоксина-1 соответственно. Частота встречаемости данных генов определена для всех идентифицированных групп и подгрупп УПЭК. Результаты исследования представлены в таблице.

Анализ факторов вирулентности, связанных с адгезией возбудителя показал, что частота встречаемости гена *pap* статистически достоверно отличалась у штаммов УПЭК, принадлежащих к филогенетическим подгруппам A₁ и B₂ ($p=0,022$ и $p=0,016$, соответственно). У штаммов УПЭК, принадлежащих к филогенетической группе B1, также выявлены статистически достоверные различия в частоте встречаемости гена *iha* ($p=0,029$).

При анализе частоты встречаемости генов, ассоциированных с факторами устойчивости к действию сыворотки (комплемента) и персистенции, статистически достоверные различия выявлены во всех группах и подгруппах, кроме D₁. Частота встречаемости гена *kpsMT* у штаммов УПЭК в филогенетических подгруппах A₁ и B₂ характеризовалась высокой степенью статистически достоверных различий ($p \leq 0,001$ и $p \leq 0,001$ соответственно). Среди штаммов, принадлежащих к филогенетической группе B1, достоверные различия выявлены для гена *iss* ($p \leq 0,001$). Среди представителей филогенетических подгрупп A₁, B₂ и D₂ выявлены статистически достоверные различия для гена *ompT* ($p=0,002$, $p \leq 0,001$ и $p=0,013$ соответственно). Кроме того, частота встречаемости гена *cva* у штаммов УПЭК, принадлежавших к филогенетической группе B1 также статистически достоверно отличалась ($p=0,007$).

Частота встречаемости гена *irp2*, ответственного за синтез сидерофоров (иерсиниабактина), статистически достоверно отличалась в филогенетической группе B1 и подгруппах A₁ и B₂ ($p \leq 0,001$, $p=0,041$ и $p=0,003$ соответственно). Кроме того, у штаммов УПЭК, принадлежавших к филогенетической группе B1, выявлены достоверные различия частоты встре-

Частота встречаемости генов, кодирующих основные факторы вирулентности у исследованных штаммов уропатогенных *E. coli* (УПЭК), относящихся к разным филогенетическим группам и подгруппам

Frequency of occurrence of the genes which encode the major virulence factors in the studied strains of uropathogenic *E. coli* (UPEC) that belong to different phylogenetic groups and subgroups

Факторы вирулентности Virulence factors	Ген Gene	Частота встречаемости генов у штаммов УПЭК, относящихся к разным филогенетическим группам и подгруппам, n (%) Frequency of occurrence of genes in UPEC strains that belong to different phylogenetic groups and subgroups, n (%)					Общая частота встречаемости генов у всех исследованных штаммов, принадлежащих к филогенетическим группам и подгруппам, n (%) The general frequency of occurrence of genes in all studied strains belonging to the phylogenetic groups and subgroups, n (%)
		A ₁	B ₁	B ₂ ₃	D ₁	D ₂	
Адгезия Adhesion	<i>fimH</i>	16 (94,1)	11 (100,0)	54 (100,0)	9 (100,0)	11 (100,0)	101 (99,0)
	<i>sfa</i>	0	0	15 (27,8)	0	0	15 (14,7)
	<i>pap</i>	*4⁻ (23,5) <i>p</i> =0,022	0	*42⁺ (77,8) <i>p</i> =0,016	6 (66,7)	6 (54,5)	58 (56,9)
	<i>afa</i>	1 (5,9)	0	2 (3,7)	0	2 (18,2)	5 (4,9)
	<i>iha</i>	7 (41,2)	*2⁻ (18,2) <i>p</i> =0,029	37 (68,5)	7 (77,8)	6 (54,5)	59 (57,8)
Устойчивость к действию сыворотки (комплемента) и персистенция Resistance to action of serum (complement) and persistence	<i>kpsMT</i>	*3⁻ (17,6) <i>p</i> ≤0,001	0	*54⁺ (100,0) <i>p</i> ≤0,001	6 (66,7)	8 (72,7)	71 (69,6)
	<i>iss</i>	6 (35,3)	*8⁺ (72,7) <i>p</i> ≤0,001	6 (11,1)	0	1 (9,1)	21 (20,6)
	<i>ompT</i>	*6⁻ (35,3) <i>p</i> =0,002	8 (72,7)	*54⁺ (100,0) <i>p</i> ≤0,001	6 (66,7)	*4⁻ (36,4) <i>p</i> =0,013	78 (76,5)
	<i>cva</i>	0	*5⁺ (45,5) <i>p</i> =0,007	6 (11,1)	0	0	11 (10,8)
Сидерофоры Siderophores	<i>iroN</i>	5 (29,4)	*8⁺ (72,7) <i>p</i> =0,043	20 (37,0)	2 (22,2)	2 (18,2)	37 (36,3)
	<i>iuc</i>	10 (58,8)	10 (90,9)	43 (79,6)	7 (77,8)	8 (72,7)	78 (76,5)
	<i>irp2</i>	*9⁻ (52,9) <i>p</i> =0,041	*3⁻ (27,3) <i>p</i> ≤0,001	*53⁺ (98,1) <i>p</i> =0,003	7 (77,8)	9 (81,8)	81 (79,4)
Токсигенность Toxigenicity	<i>hlyA</i>	*1⁻ (5,9) <i>p</i> =0,009	0	*36⁺ (66,7) <i>p</i> =0,006	2 (22,2)	4 (36,4)	43 (42,2)
	<i>usp</i>	*1⁻ (5,9) <i>p</i> ≤0,001	0	*54⁺ (100,0) <i>p</i> ≤0,001	3 (33,3)	*2⁻ (18,2) <i>p</i> =0,024	60 (58,8)
	<i>vat</i>	0	0	*21⁺ (38,9) <i>p</i> =0,049	0	2 (18,2)	23 (22,5)
	<i>set-1</i>	1 (5,9)	0	3 (5,6)	0	2 (18,2)	6 (5,9)
Итого: Total:		n=17 (16,7 %)	n=11 (10,8 %)	n=54 (52,9 %)	n=9 (8,8 %)	n=11 (10,8 %)	n=102 (100,0 %)

Примечание: n – количество штаммов, в данной группе или подгруппе.

* – достоверные различия (*p* < 0,05) между частотой встречаемости данного гена в конкретной филогенетической группе или подгруппе и частотой встречаемости этих генов в общей выборке штаммов УПЭК (во всех филогенетических группах и подгруппах).

– 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.

Всего исследовано 102 штамма УПЭК. В скобках показан % встречаемости данного гена в филогенетической группе или подгруппе.

Note: n - is the number of strains in a given group or subgroup.

* – significant differences (*p* < 0.05) between the frequency of occurrence of this gene in a particular phylogenetic group or subgroup and the frequency of occurrence of these genes in the overall sample of UPEC strains (in all phylogenetic groups and subgroups).

– the frequency of occurrence of gene in the group or subgroup is less than the frequency of occurrence of the same gene in the overall sample.

+ – the frequency of occurrence of gene in the group or subgroup is higher than the frequency of occurrence of the same gene in the overall sample.

Totally, 102 UPEC strains were studied. In parentheses, the % of occurrence of the gene in the phylogenetic group or subgroup is shown.

чаемости гена *iroN* (*p*=0,043).

У штаммов УПЭК, принадлежащих к филогенетическим подгруппам A₁ и B₂₃, статистически достоверные различия выявлены в частоте встречаемости генов *hlyA* и *usp*, ассоциированных с факторами токсигенности (*hlyA*: *p*=0,009 и *p*=0,006 соответственно и *usp*: *p*≤0,001 и *p*≤0,001 соответственно). Частота встречаемости гена *vat* среди представителей филогенетической подгруппы B₂₃ и частота встречаемости гена *usp* в филогенетической подгруппе D₂ также

статистически достоверно отличалась (*p*=0,049 и *p*=0,024 соответственно).

Таким образом, результаты проведенной работы свидетельствуют о том, что штаммы УПЭК, выделенные из мочи пациентов с ИМП на территории Саратова, принадлежат к различным филогенетическим группам и подгруппам (A₁, B₁, B₂₃, D₁ и D₂) и различаются количеством и частотой встречаемости генов, кодирующих основные факторы вирулентности. У всех изученных штаммов уропатогенных *E. coli*,

принадлежащих к различным филогенетическим группам и подгруппам, выявлено наличие генов, ответственных за синтез сидерофоров (*irp2*, *iuc*, *iroN*), устойчивости и персистенции (*ompT*) и факторов адгезии (*fimH*, *iha*). Частота встречаемости других генов была вариабельна. Обнаружено, что большинство штаммов УПЭК, циркулирующих на территории Саратова, принадлежали к филогенетической подгруппе B₂. Данная подгруппа характеризуется наибольшим набором генов, кодирующих факторы вирулентности возбудителя, что может способствовать более быстрому течению патологического процесса при развитии ИМП. Кроме того, на территории Саратова также выявлены штаммы УПЭК, которые принадлежали к филогенетическим группам B1 и подгруппам A₁, D₁ и D₂. При этом наименьшее количество генов, кодирующих факторы вирулентности, свойственно штаммам УПЭК, принадлежащих к филогенетической группе B1. Результаты проведенного исследования также выявили противоположные тенденции в частоте встречаемости генов, отвечающих за вирулентность в различных филогенетических группах и подгруппах. Например, группа B₂ характеризовалась статистически достоверно более высокой частотой встречаемости 7 из 16 исследованных генов, отвечающих за вирулентность возбудителя. В то же время, у представителей подгруппы A₁, D₁ и D₂ частота встречаемости генов, отвечающих за вирулентность, либо не отличалась от общей выборки штаммов УПЭК, либо была статистически достоверно ниже. Это может свидетельствовать о различной эффективности представителей различных филогенетических групп и подгрупп, циркулирующих в Саратовском регионе, в колонизации мочевыделительной системы при развитии ИМП, что может, в свою очередь, отражаться на тяжести и длительности течения заболевания. Поэтому при лечении пациентов с ИМП необходимо учитывать принадлежность возбудителя к филогенетическим группам и подгруппам.

Конфликт интересов. Авторы подтверждают отсутствие конфликта финансовых/нефинансовых интересов, связанных с написанием статьи.

Список литературы / References

1. Shah C., Baral R., Bartaula B., Shrestha L.B. Virulence factors of uropathogenic *Escherichia coli* (UPEC) and correlation with antimicrobial resistance. *BMC Microbiol.* 2019; 19(1):204. DOI: 10.1186/s12866-019-1587-3.
2. Sheikh A.F., Goodarzi H., Yadyad M.J., Aslani S., Amin M., Jomehzadeh N., Ranjbar R., Moradzadeh M., Azarpira S., Akhond M.R., Hashemzadeh M. 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: 10.2147/IDR.S199764.
3. Kudinha T. The pathogenesis of *Escherichia coli* urinary tract infection. In: Samie A., editor. *Escherichia coli – recent advances on physiology, pathogenesis and biotechnological applications*. 1st ed. Croatia: IntechOpen; 2017. P. 45–70. DOI: 10.5772/intechopen.69030.
4. Staji H., Rassouli M., Jourablou S. Comparative virulotyping and phylogenomics of *Escherichia coli* isolates from urine samples of men and women suffering urinary tract infections. *Iran. J. Basic Med. Sci.* 2019; 22(2):211–4. DOI: 10.22038/ijbms.2018.28360.6880.
5. Clermont O., Bonacorsi S., Bingen E. Rapid and simple deter-

mination of the *Escherichia coli* phylogenetic group. *Appl. Environ. Microbiol.* 2000; 66(10):4555–8. DOI: 10.1128/aem.66.10.4555-4558.2000.

6. Escobar-Páramo P., Grenet K., Le Menac'h A., Rode L., Salgado E., Amorin C., Gouriou S., Picard B., Rahimy M.C., Andremont A., Denamur E., Ruimy R. Large-scale population structure of human commensal *Escherichia coli* isolates. *Appl. Environ. Microbiol.* 2004; 70(9):5698–700. DOI: 10.1128/AEM.70.9.5698-5700.2004.

7. Tapader R., Basu S., Pal A. Secreted proteases: A new insight in the pathogenesis of extraintestinal pathogenic *Escherichia coli*. *Int. J. Med. Microbiol.* 2019; 309(3–4):159–168. DOI: 10.1016/j.ijmm.2019.03.002.

8. Yun K.W., Kim D.S., Kim W., Lim I.S. Molecular typing of uropathogenic *Escherichia coli* isolated from Korean children with urinary tract infection. *Korean J. Pediatr.* 2015; 58(1):20–27. DOI: 10.3345/kjp.2015.58.1.20.

9. Momtaz H., Karimian A., Madani M., Safarpour Dehkordi F., Ranjbar R., Sarshar M., Souod N. Uropathogenic *Escherichia coli* in Iran: serogroup distributions, virulence factors and antimicrobial resistance properties. *Ann. Clin. Microbiol. Antimicrob.* 2013; 12:8. DOI: 10.1186/1476-0711-12-8.

10. Khairy R.M., Mohamed E.S., Abdel Ghany H.M., Abdelrahim S.S. Phylogenic classification and virulence genes profiles of uropathogenic *E. coli* and diarrhegenic *E. coli* strains isolated from community acquired infections. *PLoS One.* 2019; 14(9):e0222441. DOI: 10.1371/journal.pone.0222441.

11. Ali I., Rafique Z., Ahmed I., Tariq F., Graham S.E., Salzman E., Foxman B., Dasti J.I. Phylogeny, sequence-typing and virulence profile of uropathogenic *Escherichia coli* (UPEC) strains from Pakistan. *BMC Infect. Dis.* 2019; 19(1):620. DOI: 10.1186/s12879-019-4258-y.

12. Asadi Karam M.R., Habibi M., Bouzari S. Urinary tract infection: Pathogenicity, antibiotic resistance and development of effective vaccines against uropathogenic *Escherichia coli*. *Mol. Immunol.* 2019; 108:56–67. DOI: 10.1016/j.molimm.2019.02.007.

13. Lühje P., Brauner A. Virulence factors of uropathogenic *E. coli* and their interaction with the host. *Adv. Microb. Physiol.* 2014; 65:337–72. DOI: 10.1016/bs.ampbs.2014.08.006.

14. Subashchandrabose S., Mobley H.L.T. Virulence and fitness determinants of uropathogenic *Escherichia coli*. *Microbiol. Spectr.* 2015; 3(4):10.1128/microbiolspec.UTI-0015-2012. DOI: 10.1128/microbiolspec.UTI-0015-2012.

15. Sarowska J., Futoma-Koloch B., Jama-Kmiecik A., Frej-Madrzak M., Ksiaczek M., Bugla-Ploskonska G., Choroszy-Krol I. Virulence factors, prevalence and potential transmission of extraintestinal pathogenic *Escherichia coli* isolated from different sources: recent reports. *Gut Pathog.* 2019; 11:10. DOI: 10.1186/s13099-019-0290-0.

Authors:

Kazantsev A.V. Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe"; 46, Universitetskaya St., Saratov, 410005, Russian Federation; e-mail: rus-rapi@microbe.ru. V.I. Razumovsky Saratov State Medical University; 112, Bolshaya Kazachya St., Saratov, 410012, Russian Federation; e-mail: meduniv@sgmu.ru.

Osina N.A., Devdariani Z.L. Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe". 46, Universitetskaya St., Saratov, 410005, Russian Federation. E-mail: rus-rapi@microbe.ru.

Mikrova A.N. V.I. Razumovsky Saratov State Medical University; 112, Bolshaya Kazachya St., Saratov, 410012, Russian Federation. E-mail: meduniv@sgmu.ru.

Glinskaya T.O., Kosheleva O.N., Maksimov Yu.V. Saratov City Clinical Hospital No 8. Saratov, Russian Federation.

Об авторах:

Казанцев А.В. Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб»; Российская Федерация, 410005, Саратов, ул. Университетская, 46; e-mail: rus-rapi@microbe.ru. Саратовский государственный медицинский университет им. В.И. Разумовского; Российская Федерация, 410012, Саратов, ул. Большая Казачья, 112; e-mail: meduniv@sgmu.ru.

Осина Н.А., Девдариани З.Л. Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб». Российская Федерация, 410005, Саратов, ул. Университетская, 46. E-mail: rus-rapi@microbe.ru.

Микрова А.Н. Саратовский государственный медицинский университет им. В.И. Разумовского. Российская Федерация, 410012, Саратов, ул. Большая Казачья, 112. E-mail: meduniv@sgmu.ru.

Глинская Т.О., Кошелева О.Н., Максимов Ю.В. Саратовская городская клиническая больница № 8. Российская Федерация, Саратов.

Поступила 09.12.19.

Отправлена на доработку 12.12.19.

Принята к публ. 20.12.19.