

12. Хохлова А.С., Кириенко А.В., Филина Н.В., Маркелова Е.В. Локальная цитокиновая регуляция на разных стадиях первичной открытоугольной глаукомы. *Тихоокеанский медицинский журнал*. 2014; 4: 46-8.
13. Еричев В.П., Петров С.Ю., Суббот А.М., Волжанин А.В., Германова В.Н., Карлова Е.В. Роль цитокинов в патогенезе глазных болезней. *Национальный журнал глаукома*. 2017; 16(1): 85-99.

REFERENCES

1. Wostyn P., DeGroot V., VanDam D., Audenaert K., EsrielKiller H., DeDeyn P.P. Theglymphatic hypothesis of glaucoma: a unifying concept incorporating vascular, biomechanical, and biochemical aspects of the disease. *Biomed. Res. Int*. 2017; 5123148.
2. Levkovitch-Verbin H., Goldshtein I., Chodick G., Zigman N., Shalev V. The Maccabi Glaucoma Study: prevalence and incidence of glaucoma in a large Israeli health maintenance organization. *Am.J.Ophthalmol*. 2014; 158(2): 402-8.
3. Markelova E.V., Hohlova A.S., Kirienko A.V., Filina N.V., Serebryannaya N.B. Features of the immunopathogenesis and the additional differential markers of primary open angle and primary angle closure glaucoma. *Zhurnal nauchnykh statey Zdorov'e i obrazovanie v XXI veke*. 2016; 18(2): 613-21. (in Russian)
4. Zhao Y., Fu J.L., Li Y.L., Li P., Lou F.L. Epidemiology and clinical characteristics of patients with glaucoma: An analysis of hospital data between 2003 and 2012. *Indian J Ophthalmol*. 2015;63(11): 825-31.
5. Tham Y.C., Li X, Wong T.Y., Quigley H.A., Aung T., Cheng C.Y. Global prevalence of glaucoma and projections of glaucoma burden through 2040: A systematic review and meta-analysis. *Ophthalmology*. 2014;121:2081-90.
6. Birich T.A. Modern trends in the treatment of glaucoma. *Retsept*. 2007;44(54): 40-4. (in Russian)
7. Lazcano-Gomez G., Soohoo J., Lynch A., N Bonell L., Martinez K., Turati M. et al. Neovascular glaucoma: a retrospective review from a tertiary eye care center in Mexico. *J. Curr: Glaucoma Pract*. 2017;11(2): 48-51.
8. Yang X., Luo C., Cai J., Powell D.W., Yu D., Kuehn M.H., Tezel G. Neurodegenerative and inflammatory pathway components linked to tnfr1 signaling in the glaucomatous human retina. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*. 2011. 52(11): 8442-54.
9. Cherednichenko L.P., Barycheva L.Yu., Bernovskaya A.A. Cytokine profile in patients with initial manifestations of primary open-angle glaucoma. *Rossiyskaya pediatricheskaya oftal'mologiya*. 2013; 1: 38-42. (in Russian)
10. Cherednichenko L.P., Barycheva L.Yu., Bernovskaya A.A. Importance of proinflammatory cytokines in the development of primary open-angle glaucoma. *Meditsinskiy vestnik Severnogo Kavkaza*. 2013; 8(2): 52-4. (in Russian)
11. Slepova O.S., Arapiev M.U., Lovpache Dzh.N. Balackaya N.V., Kulikova I.G. Peculiarities of local and systemic cytokine status in healthy of different age and patients with initial stage of primary open-angle glaucoma. *Natsional'nyi zhurnal glaukoma*. 2016; 15(1): 3-12. (in Russian)
12. Khokhlova A.S., Kirienko A.V., Filina N.V., Markelova E.V. Local cytokine regulation at different stages of primary open-angle glaucoma. *Tikhookeanskiy meditsinskiy zhurnal*. 2014; 4: 46-8. (in Russian)
13. Eriчев V.P., Petrov S.Yu., Subbot A.M., Volzhanin A.V., Germanova V.N., Karlova E.V. Rol' tsitokinov v patogeneze glaznykh bolezney. *Natsional'nyi zhurnal glaukoma*. 2017; 16(1): 85-99. (in Russian)

Поступила 01.12.17

Принята к печати 13.12.17

МИКРОБИОЛОГИЯ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2018

УДК 579.842.11.083.1

Карцев Н.Н.¹, Светоч Э.А.¹, Ершова М.Г.², Абросимова Г.Н.², Тазина О.И.¹, Пинчук А.С.¹, Фурсова Н.К.¹, Шепелин А.П.¹, Дятлов И.А.¹

ХАРАКТЕРИСТИКА ДИАРЕЕГЕННЫХ ЭШЕРИХИЙ, ВЫДЕЛЕННЫХ ОТ ДЕТЕЙ В ВОЗРАСТЕ ДО 5 ЛЕТ В г. ЯРОСЛАВЛЕ

¹ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора, 142279, п. Оболенск, Московская область, Россия;

²ГБУЗ «Ярославская областная инфекционная клиническая больница № 1», Ярославль, Россия

Диареегенные бактерии *Escherichia coli* (кишечная палочка) занимают значимое место среди бактериальных возбудителей острых кишечных инфекций (ОКИ) у детей в возрасте до 5 лет. Наибольшую опасность среди этих патогенов представляют энтеротоксигенные *E. coli*, вызывающие энтериты и энтероколиты, сопровождающиеся острой дегидратационной диареей, а также эшерихии, продуцирующие шига-токсин и являющиеся возбудителями геморрагического колита (ГК) и гемолитико-уремического синдрома (ГУС). Быстрая и правильная идентификация возбудителей этих двух групп патогенов является важной задачей бактериологов, от решения которой во многом зависит успех лечения пациента, поскольку тактика терапии энтеротоксигенной диареи и ГК с ГУС существенно различается. Высокая способность *Escherichia coli* формировать устойчивые к антимикробным препаратам (АМП) популяции, вплоть до панрезистентных, также является серьезной проблемой для науки и общественного здравоохранения. Объект исследования – коллекция изолятов *E. coli* ($n = 112$), выделенных в г. Ярославле в 2015–2017 гг. от 112 детей в возрасте до 5 лет с клиническими проявлениями острой кишечной инфекции, пищевой токсикоинфекции, гемоколита и диареи неясной этиологии. Штаммы *E. coli* первоначально протестированы с помощью диагностических агглютинирующих коли-сывороток, а затем с помощью набора реагентов для выявления и дифференциации ДНК диареегенных *E. coli* «АмплиСенс® Эшерихиозы-FL», а также со специфичными олигонуклеотидными праймерами на гены вирулентности и O-серогрупповой принадлежности. На основании полученных данных определена принадлежность изученных штаммов *E. coli* к четырём патогруппам: ЕНЕС ($n = 9$), ЕРЕС ($n = 17$), ЕТЕС ($n = 1$) и ЕАгЕС ($n = 1$). Все они явились носителями генов патогенности, характерных для каждой патогруппы. Наиболее многочисленная группа ЕРЕС представлена штаммами пяти серогрупп, среди

Для корреспонденции: Карцев Николай Николаевич, науч. сотр. лаб. антимикробных препаратов отдела молекулярной микробиологии ; e-mail: kartsev@obolensk.org

которых доминирующей являлась серогруппа O26 (9 штаммов). Таким образом, на примере изучения коллекции штаммов диареегенных эшерихий, выделенных в период 2015–2017 гг. в г. Ярославле от детей в возрасте до 5 лет с острыми кишечными инфекциями, показана эффективность применения молекулярно-генетических методов исследований для характеристики *E. coli*: определения у них серогрупп, детекции генов вирулентности и отнесения к патогруппам.

Ключевые слова: диареегенные бактерии *Escherichia coli*; полимеразная цепная реакция в реальном времени (ПЦР-РВ); серогруппы; гены вирулентности.

Для цитирования: Карцев Н.Н., Светоч Э.А., Ершова М.Г., Абросимова Г.Н., Тазина О.И., Пинчук А.С., Фурсова Н.К., Шепелин А.П., Дятлов И.А. Характеристика диареегенных эшерихий, выделенных от детей в возрасте до 5 лет в г. Ярославле. Клиническая лабораторная диагностика. 2018; 63 (4): 249-253. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-63-4-249-253>

Kartsev N.N.¹, Svetoch E.A.¹, Ershova M.G.², Abrosimova G.N.², Tazina O.I.¹, Pinchuk A.S.¹, Fursova N.K.¹, Shepelin A.P.¹, Dyatlov I.A.¹

THE CHARACTERISTIC OF DIARRHEAGENIC ESCHERICHIA SEPARATED FROM CHILDREN AGED UNDER 5 YEARS OLD IN YAROSLAVL

¹The Federal Budget Institution of Science "The State Scientific Center of Applied Microbiology and Biotechnology" of Rosпотребнадзор, 142279, village Obolensk of the Moscow Oblast, Russia

²The State Budget Institution of Health Care "The Yaroslavl oblast infection clinical hospital № 1", Yaroslavl, Russia

The diarrheagenic bacteria coli take a significant place among agents of acute intestinal infections in children aged under 5 years. The main danger among these pathogens is represented by both enterotoxigenic E. coli causing enteritis and enterocolitis accompanied by acute dehydration diarrhea and Escherichia producing shiga-toxin being agents of hemorrhagic colitis and hemolytic uremic syndrome. The fast and proper identification of agents of these two groups of pathogens is an important task of bacteriologists to be resolved for successful treatment of patient because tactics of therapy of enterotoxigenic diarrhea and hemorrhagic colitis and hemolytic uremic syndrome significantly differ. The high capacity of Escherichia coli to form populations resistant to anti-microbial medications, including pan-resistant ones, also is a serious problem for science and public health. The object of study was a collection of isolates of E. coli (n = 112), separated from 112 children aged under 5 years with clinical manifestations of acute intestinal infection, food toxic infection hemocolitis and diarrhea of obscure etiology in Yaroslavl in 2015-2017. Initially, the strains of E. coli were tested using diagnostic agglutinating coli-serums and then using reagents' kit «AmpliSens®Escherichiosis-FL» for detection and differentiation DNA of diarrheagenic bacteria coli and also with specific oligonucleotide primers to genes of virulence and O-serum group belonging. The obtained data permitted to determine belonging of analyzed strains of E. coli to four sub-groups: EHEC (n = 9), EPEC (n = 17), ETEC (n = 1) и EAgEC (n = 1). All of them were agents of genes of pathogenicity specific for every pathogroup. The most numerous group EPEC was represented by strains of five serogroups with dominating among them serogroup O26 (9 strains). Therefore, studying collection of strains of diarrheagenic Escherichia isolated during 2015-2017 in Yaroslavl from children aged under 5 years with acute intestinal infections permitted to demonstrate efficiency of application of molecular genetic methods of analysis for characterizing E. coli i.e. establishment their serogroups, detection of genes of virulence and attributing to pathogroups.

Key words: diarrheagenic *Escherichia coli*; polymerase chain reaction in real-time; serogroups; genes of virulence.

For citation: Kartsev N.N., Svetoch E.A., Ershova M.G., Abrosimova G.N., Tazina O.I., Pinchuk A.S., Fursova N.K., Shepelin A.P., Dyatlov I.A. The characteristic of diarrheagenic *Escherichia coli* separated from children aged under 5 years old in Yaroslavl. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)* 2018; 63(4): 249-253. (in Russ.). DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2018-63-4-249-253>

For correspondence: Kartsev N.N., researcher of the Laboratory of Anti-Microbial Medications of the Department of Molecular Microbiology of the Federal Budget Institution of Science "The State Scientific Center of Applied Microbiology and Biotechnology", e-mail: kartsev@obolensk.org

Conflict of interests. The authors declare absence of conflict of interests.

Acknowledgment. The study was implemented within the framework of the Research № 049 of Rosпотребнадзор "The monitoring and study of characteristics of agents of food and hospital infections, development of means of their diagnostic"

Received 26.11.2017
Accepted 25.12.2017

Введение. *Escherichia coli* является наиболее распространённой факультативно-анаэробной бактерией кишечной микрофлоры теплокровных. Большинство представителей вида, как правило, являются непатогенными для человека и животных, однако отдельные из них, имея определённый набор факторов патогенности, могут причинить серьёзный вред здоровью, вплоть до летального исхода [1]. Патогенные штаммы *E. coli* делятся на две группы: диареегенные *Escherichia coli* (DEC), вызывающие расстройства желудочно-кишечного тракта (ЖКТ), и *Escherichia coli*, являющиеся причиной внекишечных инфекций у человека и животных (ExPEC), включая сепсис, менингит, инфекцию мочевыводящих путей (ИМП) [2].

Диареегенные *Escherichia coli* – одни из основных этиологических агентов кишечных заболеваний у человека [3]. На основе наличия у DEC специфических факторов вирулентности и фенотипических признаков они подразделяются на семь основных патогрупп: энтеропатогенные *E. coli* (EPEC),

энтеротоксигенные *E. coli* (ETEC), энтероинвазивные *E. coli* (EIEC), продуцирующие шига-токсин *E. coli* (STEC), энтеро-агрегативные *E. coli* (EAgEC), диффузно-адгезивные *E. coli* (DAEC) и адгезивно-инвазивные *E. coli* (AIEC). В свою очередь, патогруппа STEC включает в себя энтерогеморрагические *E. coli* (EHEC) и неэнтерогеморрагические (non-EHEC) [4].

Для детей в возрасте до 5 лет наибольшую опасность среди этих патогенов представляют энтеротоксигенные *E. coli*, вызывающие энтериты и энтероколиты, сопровождающиеся острой дегидратационной диареей, а также продуцирующие шига-токсин эшерихии, являющиеся возбудителями геморрагического колита (ГК) и гемолитико-уремического синдрома (ГУС) [5]. Быстрая и правильная идентификация возбудителей этих двух групп патогенов является важной задачей бактериологов, от решения которой во многом зависит успех лечения пациента, поскольку тактика терапии энтеротоксигенной диареи и ГК с ГУС существенно разли-

чается. До настоящего времени в диагностических лабораториях Российской Федерации основным методом идентификации патогенных эшерихий всё ещё остаётся определение О-серогрупповой принадлежности *E. coli*, а этого с учётом имеющихся молекулярно-генетических методов идентификации явно недостаточно.

Высокая способность *Escherichia coli* формировать устойчивость к антимикробным препаратам (АМП), вплоть до возникновения панрезистентных штаммов, является в настоящее время серьёзной проблемой для науки и здравоохранения всего мира [6]. Появление антибиотикорезистентных штаммов STEC отмечается и в Российской Федерации. В работе отечественных авторов описан случай выделения энтерогеморрагических штаммов *E. coli* серотипа O145:H28, несущих гены шига-токсина *stx2* и интимина *eaeA*, а также ген бета-лактамаз расширенного спектра (БЛРС) СТХ-М-типа. Продукция БЛРС подтверждена в тесте синергизма с ингибитором бета-лактамаз методом двойных дисков. К препаратам других функциональных классов (не бета-лактамов) данные штаммы были чувствительными [7].

Цели и задачи работы – изучение коллекции изолятов *E. coli*, выделенных в г. Ярославле в 2015–2017 гг. от 112 детей в возрасте до 5 лет; оценка диагностической значимости и достоверности молекулярно-генетических методов для определения серогрупповой принадлежности и принадлежности к патогруппам штаммов *E. coli*; определение доминирующих пато- и серогрупп DEC, выделенных от детей в г. Ярославле.

Материал и методы. Объектом исследования стала коллекция изолятов *E. coli* ($n = 112$), выделенных в г. Ярославле в 2015–2016 гг. от 112 детей в возрасте до 5 лет с клиническими проявлениями острой кишечной инфекции, пищевой токсикоинфекции, гемоколита и диареи неясной этиологии. Культивирование штаммов *E. coli* проводили на плотных питательных средах: питательная среда № 1 ГРМ и лактозный ТТХ агар с тергитолом 7 (ФБУН ГНЦ ПМБ, г. Оболенск, Россия). Определение О-серогрупповой принадлежности штаммов *E. coli* осуществляли с помощью реакции агглютинации на стекле с использованием наборов: «Сыворотки диагностические, эшерихиозные ОК сухие для РА-ФСП 42-0010-4610-03», «Сыворотки диагностические, эшерихиозные ОК поливалентные сухие для РА-ФСП 42-0010-4611-03» (ОАО «Биомед» им. И.И. Мечникова, Россия).

Определение чувствительности к антибактериальным препаратам (АБП) выполняли с помощью бактериологического анализатора VITEK-2 Compact с использованием карты AST-N101 для определения чувствительности энтеробактерий к АМП. В качестве контрольных использовали штаммы *E. coli* ATCC 25922 и *E. coli* ATCC 35218, полученные из коллекции «ГКПМ-Оболенск» (Государственная коллекция патогенных микроорганизмов и клеточных культур). Интерпретировали результаты согласно критериям European Committee on Antimicrobial Susceptibility testing – EUCAST 2012–2013 гг. (http://www.eucast.org/clinical_breakpoints/) и Клиническим рекомендациям Межрегиональной ассоциации по клинической микробиологии и антимикробной химиотерапии «Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам. Версия-2015-02» (2015 г.).

Определение патогрупп штаммов *E. coli* осуществляли методом полимеразной цепной реакции с гибридизационно-флуоресцентной детекцией (ПЦР-РВ) с помощью набора реагентов для выявления и дифференциации ДНК диареогенных *E. coli* «АмплиСенс® Эшерихиозы-FL» (ФБУН ЦНИИЭ, Россия). У штаммов с подтверждённой патогруппой гены вирулентности и серогрупп-специфичные гены определяли методом ПЦР-РВ в соответствии с методиками референс-лаборатории Европейского Союза по изучению вероцитотоксин-продуцирующих *E. coli* (European Union Reference Laboratory VTEC): «Идентификация и характеристика

вероцитотоксин-продуцирующих *Escherichia coli* (VTEC) с помощью ПЦР-РВ амплификации основных генов вирулентности и генов серогрупповой принадлежности, ассоциированных с тяжёлыми инфекциями у человека EU-RL VTEC_Method_02_Rev_0», «Обнаружение и идентификация вероцитотоксин-продуцирующих *Escherichia coli* (VTEC) O104:H4 в пищевых продуктах с помощью ПЦР в реальном времени EU-RL VTEC_Method_04_Rev_1», «Обнаружение энтероагрегативных *Escherichia coli* в пищевых продуктах с помощью ПЦР-амплификации в реальном времени генов *aggR* и *aaiC* EU-RL VTEC_Method_05_Rev_1» и «Обнаружение энтеротоксигенных *Escherichia coli* в пищевых продуктах путем ПЦР-амплификации в реальном времени генов *lt*, *sth* и *stp* EU-RL VTEC_Method_08_Rev_0» (<http://www.iss.it/vtec/index.php?lang=2&anno=2017&tipo=3>).

Результаты. Первичная серологическая идентификация культур *E. coli* с помощью диагностических агглютинирующих сывороток показала их принадлежность к 21 серогруппе, среди которых преобладающими были О-группы O144 ($n = 18$), O26 ($n = 16$) и O111 ($n = 12$). На основании принадлежности к серогруппам, в соответствии с инструкцией по применению сывороток, изоляты были предварительно отнесены к соответствующим патогруппам: EPEC ($n = 87$), EIEC ($n = 24$) и EHEC -- 1 штамм серогруппы O157.

Все серологически идентифицированные штаммы *E. coli* протестированы нами с помощью набора реагентов для выявления и дифференциации ДНК диареогенных *E. coli* «АмплиСенс® Эшерихиозы-FL». На основании полученных данных изученные штаммы отнесены к четырём патогруппам: EHEC ($n = 9$), EPEC ($n = 17$), ETEC ($n = 1$) и EAgEC ($n = 1$). Для подтверждения полученных результатов эти штаммы тестировали на наличие у них генов вирулентности: интимина *eae*, шига-токсинов *stx1*, *stx2*, энтерогемолизина *ehxA*, термолabileного энтеротоксина *elt*, термостабильных энтеротоксинов *sth*, *stp* и генетических маркеров энтероагрегативных *E. coli* *aaiC* и *aggR* с помощью ПЦР-РВ со специфичными праймерами и зондами. Кроме того, подтверждали серогрупповую принадлежность DEC-штаммов с помощью ПЦР-РВ

Таблица 1

Генетическая характеристика штаммов DEC, выделенных от детей в г. Ярославле в 2015–2017 гг.

Патогруппа <i>E. coli</i>	О-группа	Гены вирулентности	Количество штаммов
EHEC ($n = 9$)	O26	<i>stx1</i> , <i>eae</i> , <i>ehxA</i>	5
	O111	<i>stx2</i> , <i>eae</i>	1
	O119	<i>stx2</i>	1
	O127	<i>stx2</i> , <i>eae</i>	1
	O157*	<i>stx2</i> , <i>eae</i> , <i>ehxA</i>	1
EPEC ($n = 17$)	O25	<i>eae</i> , <i>ehxA</i>	1
	O26	<i>eae</i>	5
	O26	<i>eae</i> , <i>ehxA</i>	4
	O111	<i>eae</i>	2
	O111	<i>eae</i> , <i>ehxA</i>	1
	O127	<i>eae</i>	3
ETEC ($n = 1$)	O128	<i>eae</i>	1
	O111	<i>elt</i> , <i>sth</i>	1
EAgEC ($n = 1$)	O25	<i>aggR</i>	1

Примечание. * – данный штамм относится к серотипу O157:H7.

Чувствительность диареогенных *E. coli*, выделенных от детей в г. Ярославле в 2015–2017 гг., к антибактериальным препаратам

Штамм	O-группа	Гены	AMP	AMS	CEF	CEX	CAZ	CTX	FEP	IMI	AMI	GEN	TOB	NAL	CIP	TET	TGC	NIT	CM	CTZ
Штаммы патогруппы ЕРЕС																				
NK1545	O26	<i>eae</i>	> 32	16	4	< 4	< 1	< 1	< 1	< 1	< 2	< 1	< 1	< 2	< 0,25	2	< 0,5	< 16	4	> 32
NK1585	O26	<i>eae</i>	> 32	> 32	4	< 4	< 1	< 1	< 1	< 1	< 2	< 1	< 1	> 32	< 0,25	> 16	< 0,5	< 16	4	> 32
NK291	O26	<i>eae</i>	4	< 2	4	< 4	< 1	< 1	< 1	< 1	< 2	< 1	< 1	< 2	< 0,25	< 1	< 0,5	< 16	< 2	< 20
NK2725	O111	<i>eae</i>	> 32	4	> 64	< 4	8	8	< 1	< 1	< 2	< 1	< 1	> 32	> 4	< 1	< 0,5	< 16	> 32	< 20
NK683	O127	<i>eae</i>	< 2	< 2	4	< 4	< 1	< 1	< 1	< 1	< 2	< 1	< 1	< 2	< 0,25	< 1	< 0,5	< 16	4	< 20
NK1649	O128	<i>eae</i>	8	4	4	< 4	< 1	< 1	< 1	< 1	< 2	< 1	< 1	< 2	< 0,25	< 1	< 0,5	< 16	4	< 20
Штаммы патогруппы ЕНЕС																				
NK437	O26	<i>stx1, eae, ehxA</i>	< 2	< 2	4	< 4	< 1	< 1	< 1	< 1	< 2	< 1	< 1	< 2	< 0,25	< 1	< 0,5	< 16	4	< 20
NK749	O26	<i>stx1, eae, ehxA</i>	4	< 2	4	< 4	< 1	< 1	< 1	< 1	< 2	< 1	< 1	< 2	< 0,25	< 1	< 0,5	< 16	4	< 20
NK215	O26	<i>stx1, eae, ehxA</i>	4	4	4	< 4	< 1	< 1	< 1	< 1	< 2	< 1	< 1	< 2	< 0,25	< 1	< 0,5	< 16	4	< 20
NK1851	O111	<i>stx2, eae</i>	> 32	< 2	2	< 4	< 1	< 1	< 1	< 1	< 2	< 1	< 1	4	< 0,25	2	< 0,5	< 16	> 64	> 32
NK589	O127	<i>stx2, eae</i>	< 2	< 2	4	< 4	< 1	< 1	< 1	< 1	< 2	< 1	< 1	< 2	< 0,25	< 1	< 0,5	< 16	8	< 2
NK1227	O157	<i>stx2, eae</i>	< 2	< 2	4	< 4	< 1	< 1	< 1	< 1	< 2	< 1	< 1	< 2	< 0,25	< 1	< 0,5	< 16	4	< 20
Штамм патогруппы EAgEC																				
NK1615	O25	<i>aggR</i>	> 32	> 32	8	8	< 1	< 1	< 1	< 1	< 2	> 16	> 16	> 32	< 0,5	> 16	< 0,5	< 16	> 64	> 320

Примечание. AMP – ампициллин; AMS – амоксициллин-сульбактам; CEF – цефуроксим; CEX – цефокситин; CAZ – цефтазидим; CTX – цефотаксим; FEP – цефепим; IMI – имипенем; AMI – амикацин; GEN – гентамицин; TOB – тобрамицин; NAL – налидиксовая кислота; CIP – ципрофлоксацин; TET – тетрациклин; TGC – тигециклин; NIT – нитрофурантоин; CM – хлорамфеникол; CTZ – котримоксазол.

со специфичными праймерами и зондами на серогруппы O25, O26, O45, O103, O104, O111, O121, O128, O145 и O157. Результаты генетической характеристики изученных штаммов *E. coli* представлены в табл. 1.

По результатам проведённых исследований идентифицированы четыре патогруппы диареогенных эшерихий, несущие характерные для них гены вирулентности. Наиболее многочисленная группа ЕРЕС представлена штаммами пяти серогрупп, среди которых доминирующей являлась серогруппа O26 (9 штаммов). Интересно отметить, что штаммы ЕРЕС серогруппы O26 и O111 разделились на две подгруппы: имеющие ген энтерогемолизина *ehxA* и не имеющие этого гена. Доминирующей серогруппой среди штаммов ЕНЕС также оказалась серогруппа O26 (5 штаммов). Это подтверждает клиническую значимость эшерихий данного серотипа. Тенденция к увеличению эпидемической значимости штаммов ЕНЕС серогруппы O26, по сравнению с классическими представителями ЕНЕС – штаммами серогруппы O157, по данным Европейской референс-лаборатории по изучению *E. coli*, отмечается с начала 2000-х гг. [8].

Особое внимание привлекает факт выделения от трёхмесячного ребёнка энтероагрегативного антибиотикорезистентного штамма *E. coli* серогруппы O25, несущего ген *aggR*, – регулятора оперона синтеза фимбрий, который оказался устойчивым к АМП шести функциональных классов: бета-лактамам, аминогликозидам, хинолонам, тетрациклинам, фениколам и сульфаниламидам, то есть являлся мультирезистентным.

Другим интересным моментом является выделение

штамма ЕТЕС серогруппы O111 с двумя генами энтеротоксигенов *elt* и *sth*, поскольку данная серогруппа наиболее характерна для энтеропатогенных и энтерогеморрагических эшерихий, а энтеротоксигенные штаммы серогруппы O111 выделяли крайне редко.

У 13 штаммов диареогенных *E. coli* с подтверждённой патогруппой определена чувствительность к АМП семи функциональных классов на автоматическом биохимическом анализаторе Vitek-2 Compact. Как следует из табл. 2, из 13 штаммов 4

имели фенотип множественной лекарственной устойчивости (МЛУ): один штамм ЕРЕС серогруппы O26 был одновременно устойчив к бета-лактамам, налидиксовой кислоте, тетрациклину и сульфаниламидам; другой штамм ЕРЕС серогруппы O111 был одновременно устойчив к бета-лактамам, хинолонам и хлорамфениколу. Один из шести штаммов патогруппы ЕНЕС также обладал фенотипом МЛУ -- характеризовался устойчивостью к АМП трёх функциональных классов: ампициллину, хлорамфениколу и ко-тримоксазолу.

Обсуждение. В ходе изучения коллекции диареогенных штаммов *E. coli*, выделенных от детей в возрасте до 5 лет в г. Ярославле, определена их принадлежность к четырём патогруппам, а именно: энтерогеморрагическим, энтеропатогенным, энтеротоксигенным и энтероагрегативным *E. coli*. Наиболее широко представленными среди них были штаммы ЕРЕС и ЕНЕС. Идентифицирован также энтероагрегативный штамм *E. coli* серогруппы O25 с геном *aggR*. Кроме того, выделен и штамм ЕТЕС серогруппы O111 с двумя генами энтеротоксигенов *elt* и *sth*.

Установлено, что два штамма ЕРЕС и один штамм ЕНЕС проявляли фенотип МЛУ – были одновременно устойчивы к АМП трёх и четырёх функциональных классов. Особое внимание обращает на себя энтероагрегативный штамм *E. coli* серогруппы O25, выделенный от ребёнка трёх месяцев, который оказался устойчивым к препаратам шести функциональных классов, то есть был мультирезистентным.

В ходе проведённого исследования среди изученных штаммов ЕРЕС и ЕНЕС установлено доминирование *E. coli* серогруппы O26, что указывает на эпидемиологическую и клиническую значимость эшерихий данной серогруппы. Вследствие этого при выделении *E. coli* данной серогруппы представляется необходимым определение у них факторов патогенности с помощью ПЦР-РВ или иммунохимическими методами, позволяющими напрямую детектировать шига-токсины.

Таким образом, на примере изучения коллекции штаммов диареогенных эшерихий, выделенных в период 2015–2017 гг. в г. Ярославле от детей в возрасте до 5 лет с острыми кишечными инфекциями, показана эффективность применения молекулярно-генетических методов исследований для определения патогрупп, генов вирулентности и серогрупп *E. coli*. Показано значительное биологическое разнообразие диареогенных штаммов *E. coli*, выделенных от детей с клиническими проявлениями диареи, а также необходимость широкого внедрения молекулярно-генетических методов детекции для идентификации патогрупп диареогенных эшерихий.

Наши исследования показывают также, что широко используемое в настоящее время в диагностических лабораториях серологическое типирование DEC-штаммов не позволяет определять их патотип, что в свою очередь может повлечь за собой ошибки в лечении диарей. Особенно это касается ГК, вызванного ЕНЕС, когда применение АБП не рекомендуется: их использование может лишь увеличить число случаев развития ГУС у больных с ГК и осложнить течение болезни.

Финансирование. Работа выполнена в рамках НИР № 049 Роспотребнадзора «Мониторинг и изучение свойств возбудителей пищевых и госпитальных инфекций, разработка средств их диагностики».

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА (пп.1—6, 8 см. REFERENCES)

- Кафтырева, Л.А., Макарова, М.А., Коновалова, Т.А., Матвеева, З.Н., Характеристика энтерогеморрагической *Escherichia coli* O145:H28, выделенной от пациента с гемолитико-уремическим синдромом. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2013; 5: 100-4.

REFERENCES

- Belanger L., Garenaux A., Harel J., Boulianne M., Nadeau E., Dozois C.M. *Escherichia coli* from animal reservoirs as potential source of human extraintestinal pathogenic *E. coli*. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* 2011 Jun; 62(1): 1-10.
- Kaper J.B., Nataro J.P., Molby H.L. Pathogenic *Escherichia coli*. *Nat. Rev. Microbiol.* 2004 Feb; 2(2): 123-40.
- Hodges K., Gill R. Infectious diarrhea: Cellular and molecular mechanisms. *Gut Microbes*. 2010; 1(1): 4-21.
- Fratamico P.M., DebRoy C., Needleman D.S. Editorial: Emerging Approaches for Typing, Detection, Characterization, and Traceback of *Escherichia coli*. *Frontiers in Microbiology*. 2016; 7: 2089.
- Nyholm O., Halkilahti J., Wiklund G., Okeke U., Paulin L., Auvinen P., Siitonen A. Comparative Genomics and Characterization of Hybrid Shigatoxigenic and Enterotoxigenic *Escherichia coli* (STEC/ETEC) Strains. *PLoS ONE*, 2015; 10(8), e0135936.
- French G.L. The continuing crisis in antibiotic resistance. *Int. J. Antimicrob. Agents*. 2010 Nov; 36 Suppl 3: S3-7.
- Kaftyreva L.A., Makarova M.A., Konovalova T.A., Matveeva Z.N. Characteristics of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O145:H28 isolated from a patient with haemolytic-uremic syndrome. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii*. 2013; 5: 100-4. (in Russian)
- Germinario C, Caprioli A, Giordano M, Chironna M, Gallone MS, Tafuri S, Minelli F, Maugliani A, Michelacci V, Santangelo L, Mongelli O, Montagna C, Scavia G, on behalf of all participants of the Outbreak investigation team. Community-wide outbreak of haemolytic uraemic syndrome associated with Shiga toxin 2-producing *Escherichia coli* O26:H11 in southern Italy, summer 2013. *Euro Surveill*. 2016; 21(38):pii=30343.

Поступила 26.11.17

Принята к печати 25.12.17

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2018

УДК 579.871.1:579.252.551.083.1

Харсеева Г. Г., Щербатая О. С., Лабушкина А. В.

АНТИБИОТИКОЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ *CORYNEBACTERIUM DIPHTHERIAE GRAVIS TOX*⁺ В СОСТАВЕ СМЕШАННЫХ БИОПЛЁНОК

ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, 344022, Ростов-на-Дону, Россия

Цель – определение чувствительности к антибактериальным препаратам штаммов *C. diphtheriae gravis tox*⁺ в составе смешанных биоплёнок. Объектом исследования послужили штаммы: *Corynebacterium diphtheriae gravis tox*⁺ № 665, *Corynebacterium pseudodiphtheriticum* (полирезистентный), *Corynebacterium pseudodiphtheriticum* (антибиотикочувствительный). Формировали две смешанные биоплёнки (120- и 720-часовые) штамма *Corynebacterium diphtheriae gravis tox*⁺ № 665 со штаммами *Corynebacterium pseudodiphtheriticum* (полирезистентный) и *Corynebacterium pseudodiphtheriticum* (антибиотикочувствительный). Чувствительность к антибактериальным препаратам типовой и биоплёночных культур коринебактерий определяли методом серийных разведений в жидкой питательной среде на основании МПК (мг/л). Типовая культура музейного штамма *C. diphtheriae gravis tox*⁺ № 665, моделирующая смешанные биоплёнки, обладала чувствительностью ко всем использованным антибактериальным препаратам. При исследовании антибиотикочувствительности штамма *C. diphtheriae gravis tox*⁺ № 665 в составе биоплёнки со штаммом *C. pseudodiphtheriticum*, полирезистентным к четырём антибактериальным препаратам (цефазолин, канамицин, азитромицин, цiproфлоксацин, МПК

Для корреспонденции: Лабушкина Анна Владимировна, канд. мед. наук, доц. каф. микробиологии и вирусологии № 2; e-mail: galinagh@bk.ru