

## МИКРОБИОЛОГИЯ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2020

Макарова М. А.<sup>1,2</sup>, Матвеева З. Н.<sup>1</sup>, Смирнова Е. В.<sup>3</sup>, Семченкова Л. И.<sup>3</sup>, Деревянченко И. А.<sup>3</sup>, Сокольник С. Е.<sup>4</sup>, Жирнова Л. Ю.<sup>4</sup>, Котова Н. К.<sup>4</sup>, Пеленко Т. Ф.<sup>4</sup>, Дудников Д. С.<sup>4</sup>, Васильева Н. В.<sup>2,5</sup>, Кафтырева Л. А.<sup>1,2</sup>

### ЛАБОРАТОРНЫЕ ОШИБКИ ИДЕНТИФИКАЦИИ ШТАММОВ *ESCHERICHIA COLI* СЕРОЛОГИЧЕСКИХ ГРУПП O<sub>6</sub> И O<sub>25</sub> КАК ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ОСТРЫХ КИШЕЧНЫХ ИНФЕКЦИЙ

<sup>1</sup>ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера Роспотребнадзора, 197101, Санкт-Петербург, Россия;

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО СЗГМУ им. И.И. Мечникова Минздрава РФ, кафедра медицинской микробиологии, 191015, Санкт-Петербург, Россия;

<sup>3</sup>ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в городе Санкт-Петербург», филиал № 3, 192012, Санкт-Петербург, Россия;

<sup>4</sup>ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в городе Санкт-Петербург», филиал № 6, 198329, Санкт-Петербург, Россия;

<sup>5</sup>ФГБОУ ВО СЗГМУ им. И.И. Мечникова Минздрава РФ, НИИ медицинской микологии им. П.Н. Кашкина, 194291, Санкт-Петербург, Россия

Изучены гены, кодирующие факторы вирулентности 221 штамма: *E. coli* O<sub>6</sub>:H<sub>1</sub> (194) и *E. coli* O<sub>25</sub>:H<sub>4</sub> (27), выделенных в 2014–2018 г.г. из проб испражнений детей и взрослых, обследованных по эпидемическим показаниям. Молекулярные методы включали ПЦР с гибридизационно-флуоресцентной и с электрофоретической детекцией продуктов амплификации. Штаммы не имели генов вирулентности диареегенных *E. coli* (DEC) патогрупп EPEC, ETEC, EIEC, EHEC, EAggEC, принадлежали к филогенетической группе B2. Содержали от четырех до восьми генов, кодирующих факторы вирулентности ExPEC – возбудителей внекишечных заболеваний: *E. coli* O<sub>6</sub>:H<sub>1</sub> – *pap* (68,6%), *sfa* (87,6%), *fimH* (96,4%), *hly* (62,4%), *cnf* (74,7%), *iutA* (97,9%), *fyuA* (95,9%), *chu* (100%); *E. coli* O<sub>25</sub>:H<sub>4</sub> – *pap* (66,7%), *afa* (22,2%), *fimH* (100%), *hly* (44,4%), *cnf* (44,4%), *iutA* (100%), *fyuA* (100%), *chu* (100%). Определены чувствительность к β-лактамам, фторхинолонам, аминогликозидам, нитрофурантоину, сульфаниламиду, триметоприм/сульфаметоксазолу – в соответствии КР 2018. Чувствительны к АМП 60,3% *E. coli* O<sub>6</sub>:H<sub>1</sub>, штаммы *E. coli* O<sub>25</sub>:H<sub>4</sub> сохраняли чувствительность к карбапенемам и нитрофуранам. Резистентность к цефалоспорином расширенного спектра обусловлена продукцией БЛРС (CTX-M). MDR фенотипом характеризовались 57,1% резистентных штаммов *E. coli* O<sub>6</sub>:H<sub>1</sub> и 100% штаммов *E. coli* O<sub>25</sub>:H<sub>4</sub>. Фенотип XDR имел каждый пятый MDR штамм *E. coli* O<sub>6</sub>:H<sub>1</sub> и *E. coli* O<sub>25</sub>:H<sub>4</sub>. Все штаммы *E. coli* O<sub>25</sub>:H<sub>4</sub> относились к ST131. Учитывая важную роль *E. coli* в патологии человека, детекцию генов вирулентности следует проводить для подтверждения этиологической значимости, выделенного штамма.

Ключевые слова: *E. coli* O<sub>6</sub>:H<sub>1</sub>; O<sub>25</sub>:H<sub>4</sub>, гены вирулентности; резистентность; сиквенс-тип 131.

Для цитирования: Макарова М. А., Матвеева З. Н., Смирнова Е. В., Семченкова Л. И., Деревянченко И. А., Сокольник С. Е., Жирнова Л. Ю., Котова Н. К., Пеленко Т. Ф., Дудников Д. С., Васильева Н. В., Кафтырева Л. А. Лабораторные ошибки идентификации штаммов *Escherichia coli* серологических групп O<sub>6</sub> и O<sub>25</sub> как возбудителей острых кишечных инфекций. Клиническая лабораторная диагностика. 2020; 65 (6): 368–374.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2020-65-6-368-374>

Makarova M. A.<sup>1,2</sup>, Matveeva Z. N.<sup>1</sup>, Smirnova E. V.<sup>3</sup>, Semchenkova L. I.<sup>3</sup>, Dereviachenko I. A.<sup>3</sup>, Sokol'nik S.E.<sup>4</sup>, Zhirnova L.Y.<sup>4</sup>, Kotova N.K.<sup>4</sup>, Pelenko T.V.<sup>4</sup>, Dudnikov D.S.<sup>4</sup>, Vasilyeva N.V.<sup>2,5</sup>, Kaftyreva L. A.<sup>1,2</sup>,

LABORATORY ERRORS FOR IDENTIFICATION OF THE *ESCHERICHIA COLI* STRAINS OF THE SEROLOGICAL GROUPS O<sub>6</sub> AND O<sub>25</sub> AS ACUTE INTESTINAL INFECTIONS

<sup>1</sup>Saint-Petersburg Pasteur Institute, 197101, Saint-Petersburg, Russia;

<sup>2</sup>North-Western State Medical University named after I. I. Mechnikov, the medical microbiology department, 191015, Saint-Petersburg, Russia;

<sup>3</sup>ФБУЗ «Center for Hygiene and Epidemiology in St. Petersburg», division № 3, 192012, Saint-Petersburg, Russia;

<sup>4</sup>ФБУЗ «Center for Hygiene and Epidemiology in St. Petersburg», division № 6, 198329, Saint-Petersburg, Russia;

<sup>5</sup>North-Western State Medical University named after I. I. Mechnikov, Kashkin Research Institute of Medical Mycology, 194291, Saint-Petersburg, Russia

Were studied the genes encoding the virulence factors of 221 strains: *E. coli* O<sub>6</sub>:H<sub>1</sub> (194) and *E. coli* O<sub>25</sub>:H<sub>4</sub> (27), isolated in 2014–2018 from stool samples of children and adults examined according to epidemic indications. Molecular methods included PCR with hybridization-fluorescence and electrophoresis detection of amplified products. The strains did not have virulence genes for diarrheagenic *E. coli* (DEC) pathogroups EPEC, ETEC, EIEC, EHEC, EAggEC, and belonged to the phylogenetic group B2. They contained from four to eight genes encoding virulence factors of ExPEC: *E. coli* O<sub>6</sub>:H<sub>1</sub> – *pap* (68,6%), *sfa* (87,6%), *fimH* (96,4%), *hly* (62,4%), *cnf* (74,7%), *iutA* (97,9%), *fyuA* (95,9%), *chu* (100%); *E. coli* O<sub>25</sub>:H<sub>4</sub> – *pap* (66,7%), *afa* (22,2%), *fimH* (100%), *hly* (44,4%), *cnf* (44,4%), *iutA* (100%), *fyuA* (100%), *chu* (100%). The antimicrobial susceptibility testing to 6 classes of antimicrobials (beta-lactams, fluoroquinolones, aminoglycosides, nitrofurantoin, sulfanilamide, trimethoprim / sulfamethoxazole)

according the EUCAST. 60,3% of *E. coli* O<sub>6</sub>:H<sub>1</sub> were sensitive to antibiotics, *E. coli* O<sub>25</sub>:H<sub>4</sub> remained sensitive to carbapenems and nitrofurans. Extended-spectrum cephalosporins resistance was due to the production ESBL (CTX-M). The 57,1% resistant strains of *E. coli* O<sub>6</sub>:H<sub>1</sub> and 100% of *E. coli* O<sub>25</sub>:H<sub>4</sub> strains belonged to the MDR phenotype. The XDR phenotype had one in five MDR strains of *E. coli* O<sub>6</sub>:H<sub>1</sub> and *E. coli* O<sub>25</sub>:H<sub>4</sub>. All strains of *E. coli* O<sub>25</sub>:H<sub>4</sub> belonged to ST131. Given the important role of *E. coli* in human pathology, detection of virulence genes should be performed to confirm the etiological significance of the isolated strain.

**Keywords:** *E. coli* O<sub>6</sub>:H<sub>1</sub>; O<sub>25</sub>:H<sub>4</sub>; virulence genes, resistance, sequins-type 131.

**For citation:** Makarova M. A., Matveeva Z. N., Smirnova E. V., Semchenkova L. I., Derevianchenko I. A., Sokol'nik S.E., Zhirnova L.Y., Kotova N.K., Pelenko T.V., Dudnikov D.S., Vasilyeva N.V., Kaftyreva L. A Laboratory errors for identification of the escherichia coli strains of the serological groups O<sub>6</sub> and O<sub>25</sub> as acute intestinal infections. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)*. 2020; 65 (6): 368-374 (in Russ.). DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2020-65-6-368-374>

**For correspondence:** Makarova M.A., PhD, senior researcher of laboratory of identification of pathogen of Saint-Petersburg Pasteur Institute; e-mail: makmaria@mail.ru

**Information about authors:**

Makarova Mariia A., <https://orcid.org/0000-0002-7589-0234>;  
Kaftyreva Lidiya A., <https://orcid.org/0000-0003-0989-1404>; ResearcherID: K-2708-2014  
Matveeva Zoya N., <https://orcid.org/0000-0002-7173-2255>;  
Vasilyeva Natalia V., <http://orcid.org/0000-0002-6951-6596>; ResearcherID: P-1132-2014

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

**Acknowledgment.** The study had no sponsorship.

Received 10.04.2020  
Accepted 13.04.2020

**Введение.** *Escherichia coli* – облигатные синантропные микроорганизмы желудочно-кишечного тракта человека и животных. Высокая пластичность генома *E. coli* создает потенциал для появления штаммов, способных вызывать широкий спектр заболеваний человека кишечной и внекишечной локализации. Как возбудители острых кишечных инфекций (ОКИ), в зависимости от наличия генов вирулентности, кодирующих определённые факторы патогенности, диареегенные *E. coli* (DEC) разделены на шесть патогрупп (EPEC – энтеропатогенные, ETEC – энтеротоксигенные, EHEC – энтерогеморрагические, EIEC – энтероинвазивные, EAaggEC – энтероаггративные, DAEC – диффузно-адгерентные) [1, 2]. Описаны ещё две патогруппы адгезивно-инвазивные *E. coli* (AIEC), которые часто выделяются из проб испражнений при болезни Крона и шига-токсин (ST) продуцирующие энтероаггративные *E. coli* (STEAEC) [3]. Штаммы каждой патогруппы DEC характеризуются конкретными патогенетическими механизмами, обеспечивающими развитие воспалительного процесса в разных отделах кишечника человека, клинически проявляющегося диарейным синдромом [4]. *E. coli*, вызывающие заболевания внекишечной локализации, выделены в отдельную патогруппу экстраинтестинальных *E. coli* (ExPEC), которые объединяют три патотипа: уропатогенные (UPEC), вызывающие инфекции мочевыводящих путей (ИМП), менингеальные (NMEC), вызывающие менингит новорожденных, септицемические (SEPEC), вызывающие бактериемию и сепсис [5]. UPEC являются ведущими возбудителями заболеваний мочевыводящих путей во многих странах, имеют широкое распространение при инфекциях, связанных с оказанием медицинской помощи (ИСМП) [6, 7]. Развитие резистентности у возбудителей инфекционных заболеваний к клинически значимым АМП (антимикробные препараты) является глобальной проблемой современности. В 2014 г. в докладе ВОЗ особое значение уделено семи видам бактерий (включая *E. coli*), которые вызывают жизнеугрожающие заболевания, такие как сепсис, диарея, пневмония, ИМП и др. [8]. В 2017 г. ВОЗ опубликовала список 12 «приоритетных»

патогенов, устойчивых к АМП, представляющих наибольшую угрозу для здоровья человека. Особое значение имеют грамотрицательные бактерии, характеризующиеся сочетанной устойчивостью к нескольким клинически значимым классам АМП. Штаммы *E. coli* с множественной устойчивостью по потребности в создании новых АМП отнесены к группе микроорганизмов с критически высоким уровнем приоритетности [9].

Штаммы *E. coli* O<sub>6</sub> и O<sub>25</sub> по антигенной структуре представляют гетерогенные серологические группы, представленные десятью и более серологическими вариантами. В зависимости от набора генов, кодирующих факторы патогенности, штаммы *E. coli* O<sub>6</sub> и O<sub>25</sub> могут относиться к DEC и ExPEC [10, 11]. Как возбудители ОКИ *E. coli* O<sub>6</sub> и O<sub>25</sub> принадлежат к патогруппе ETEC [12].

Основным фактором вирулентности ETEC является продукция энтеротоксинов – термостабильного (ST) и термолабильного (LT), вызывающих нарушение электролитного баланса в клетках кишечного эпителия, приводящее к острой профузной водянистой диарее [4, 13, 14].

В отношении *E. coli* серогрупп: O<sub>4</sub>, O<sub>6</sub>, O<sub>25</sub>, O<sub>75</sub>, O<sub>114</sub>, O<sub>162</sub> имеются сведения о равной частоте их обнаружения в пробах испражнений у больных и здоровых детей, что вызывает сомнение в этиологической значимости этих микроорганизмов как возбудителей ОКИ [14]. Доказано, что штаммы *E. coli* с антигенной структурой O<sub>6</sub>:K<sub>13</sub>:H<sub>16</sub> и O<sub>6</sub>:K<sub>13</sub>:H<sub>31</sub> вызывают диарею у детей. Тем не менее, суждение об этиологическом значении *E. coli* O<sub>6</sub> как возбудителя ОКИ на основании принадлежности к O<sub>6</sub> серогруппе затруднено, так как они относятся к наиболее распространённым представителям нормобиоты кишечника человека [14]. Актуальна проблема переоценки роли некоторых серологических вариантов *E. coli* в этиологии ОКИ, отражающая недостаточную эффективность применения современного спектра методов этиологической диагностики в бактериологических диагностических лабораториях.

Цель исследования – оценка патогенного потенциала штаммов *E. coli* O<sub>6</sub> и O<sub>25</sub>, как возбудителей ОКИ, чувствительности к АМП с позиций современных критериев интерпретации резистентности.

**Материал и методы.** Изучен 221 штамм *E. coli* серогрупп  $O_6$  (194 штамма) и  $O_{25}$  (27 штаммов), выделенные из проб испражнений детей и взрослых, обследованных по эпидемическим показаниям (контактные в очагах ОКИ, декретированные лица). Выделение *E. coli*  $O_6$  и  $O_{25}$  проводили культуральным методом, видовая идентификация штаммов включала определение ферментативных свойств (пробирочные тесты) и серогруппы (в реакции агглютинации с диагностическими эшерихиозными ОК – поливалентными и типовыми сыворотками (ЗАО «ЭКО-лаб», Россия). В ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера штаммы реидентифицированы: видовая идентификация – методом матрично-ассоциированной лазерной десорбции/ионизации – времяпролётной масс-спектрометрии (MALDI-ToF MS) с использованием системы Microflex LT и программного обеспечения MALDI Biotyper v.30 (Bruker Daltonics, Германия). Рекомендуемые значения «Score»  $\geq 2,2$  использованы в качестве критерия надёжной видовой идентификации. Молекулярные методы включали ПЦР с гибридационно-флуоресцентной (ПЦР-РВ) и с электрофоретической детекцией продуктов амплификации (ПЦР-ЭФ). Детекцию генов, кодирующих факторы вирулентности DEC, проводили методом ПЦР-РВ с набором реагентов «АмплиСенс® Эшерихиозы-FL» (ФБУН Центральный НИИ эпидемиологии, Россия). Молекулярное серотипирование (детекция генов *rfb* и *fliC*, кодирующих O и H антигены *E. coli*  $O_6$  и  $O_{25}$ ), филогенетическое типирование (детекция генов, определяющих принадлежность штаммов к филогенетической группе), амплификацию генов ExPEC, кодирующих продукцию адгезинов (*fimH*, *sfa*, *afa*, *pap*), токсинов (*hly*, *cnf*), инвазинов (*ibeA*), сидерофоров (*iutA*, *fyuA*, *chuA*), генов  $\beta$ -лактамаз, скрининг пандемического клона *E. coli*  $O_{25}:H_4B_2$  ST131 проводили методом ПЦР-ЭФ, используя опубликованные праймеры [16-21]. Синтез ПЦР-праймеров выполнен ЗАО «Евроген», Россия. Экстракцию ДНК для всех молекулярных методов проводили набором «InstaGene™ Matrix» (Bio-Rad, США). Чувствительность к  $\beta$ -лактамам, фторхинолонам, аминогликозидам, нитрофурантоину, сульфаниламиду, триметоприм/сульфаметоксазолу определяли диско-диффузионным методом (ДДМ), используя диски и агар Мюллера-Хинтон (Oxoid, Великобритания). Интерпретацию результатов проводили в соответствии КР 2018 г. [22]. Для характеристики штаммов использовали общепринятые показатели «чувствительные», «умеренно резистентные», «резистентные», «нечувствительные»; к последней – отнесены «умеренно резистентные» и «резистентные» штаммы. Для выявления продукции БЛРС ( $\beta$ -лактамазы расширенного спектра) использован метод «двойных дисков» с цефтазидимом, цефотаксимом и амоксиклавом [23]. В соответствии с международными критериями, к фенотипу множественной резистентности (MDR) отнесены штаммы, устойчивые к трём категориям АМП, включая всех продуцентов БЛРС и карбапенемаз, фенотипом экстремальной резистентности (XDR) – характеризовали штаммы *E. coli* – устойчивые ко всем препаратам, за исключением одной или двух категорий АМП [24, 25]. Статистическую обработку результатов проводили с использованием оценки различий средних величин (критерий Фишера). Статистически значимыми считали различия при доверительном интервале 95% ( $p < 0,05$ ).

**Результаты. Реидентификация штаммов *E. coli*  $O_6$  и  $O_{25}$ .** Культуральные, ферментативные и антигенные свойства подтвердили принадлежность всех штаммов к

виду *E. coli* и серогруппам:  $O_6$  и  $O_{25}$ . Все штаммы типично росли на дифференциально-диагностических средах в виде лактозоположительных колоний, характеризовались подвижностью (диффузное помутнение 0,3% питательного агара). Методом MALDI-ToF штаммы идентифицированы как *E. coli*. Штаммы *E. coli*  $O_{25}$  агглютинировались ОК поливалентными ОКА и ОКД сыворотками, ОК-моновалентной сывороткой и иммуноглобулином, содержащим антитела к ОК антигенам *E. coli*  $O_{25}:K_{11}$  и моновалентной O сывороткой, содержащей антитела к антигену  $O_{25}$ . Штаммы *E. coli*  $O_6$  давали выраженную агглютинацию с моновалентной ОК сывороткой и иммуноглобулином, моновалентной O сывороткой к антигену  $O_6$ . Определение O антигенов *E. coli* серогрупп  $O_6$  и  $O_{25}$  не представляла сложности.

**Молекулярное серотипирование штаммов *E. coli*  $O_6$  и  $O_{25}$ .** Все *E. coli*  $O_6$  содержали ген *rfb<sub>6</sub>*, кодирующий синтез  $O_6$  антигена и ген *fliC<sub>1</sub>*, кодирующий синтез антигена  $H_1$ , что подтверждало их принадлежность к серогруппе  $O_6$ , серовару  $O_6:H_1$ . У всех штаммов *E. coli*  $O_{25}$  выявлены гены *rfb<sub>25</sub>* и *fliC<sub>4</sub>*, наличие которых подтверждало принадлежность их к серогруппе  $O_{25}$  и серовару  $O_{25}:H_4$ .

**Детекция генов вирулентности патогрупп DEC – возбудителей ОКИ.** Ни один из изученных штаммов *E. coli*  $O_6:H_1$  и  $O_{25}:H_4$  не имел детерминант вирулентности известных патогрупп (EPEC, ETEC, EHEC, EIEC, EAaggEC) DEC. Отсутствие генов, кодирующих вирулентность DEC, свидетельствует о том, что штаммы не являются возбудителями ОКИ.

**Детекция генов, кодирующих факторы вирулентности ExPEC.** Тестирование штаммов *E. coli*  $O_6:H_1$  и  $O_{25}:H_4$  на наличие 10 генов, кодирующих факторы вирулентности ExPEC, выявило девять генов, кодирующих адгезию (гены: *pap*, *fimH*, *sfa*, *afa*), продукцию токсинов (гены: *hlyA*, *cnf*), сидерофоров (гены: *fyuA*, *chu*, *iutA*), характерных для штаммов *E. coli* – возбудителей внекишечных заболеваний, в частности, ИМП. Ген (*ibeA*), кодирующий фактор инвазии SEPEC и NMES не выявлен ни у одного из изученных штаммов. Молекулярно-генетическая характеристика штаммов представлена в табл. 1.

Филогенетический анализ показал принадлежность штаммов *E. coli*  $O_6:H_1$  и  $O_{25}:H_4$  к филогенетической группе B2 (содержат гены *chuA*, *fyuA*, *TspE4.C2*), к которой относятся практически все ExPEC [26].

Анализ генов, ответственных за синтез адгезинов показал, что практически все штаммы *E. coli*  $O_6:H_1$  и  $O_{25}:H_4$  содержат ген *fimH*, кодирующий маннозочувствительные фимбрии тип 1 (96,4 и 100%, соответственно). Более половины штаммов содержат ген *pap*, кодирующий пиелонефрит-ассоциированные пили (68,6 и 66,7%, соответственно), ген *sfa*, кодирующий S-фимбрии содержат только *E. coli*  $O_6:H_1$  (87,6%). Ген *afa*, кодирующий афимбриальные адгезины найден только у штаммов *E. coli*  $O_{25}:H_4$  (22,2%), которые в комбинации с фимбриальными адгезинами усиливают колонизационный потенциал возбудителя. Ген *cnf*, кодирующий продукцию цитонекротического фактора, достоверно чаще встречается у штаммов *E. coli*  $O_6:H_1$  (74,7%), по сравнению со штаммами *E. coli*  $O_{25}:H_4$  (44,4%), ген *hly*, кодирующий продукцию  $\alpha$ -гемолизина, встречался у 62,4% и 44,4% штаммов, изучаемых сероваров. Гены, ассоциированные с персистенцией возбудителя в организме человека (сидерофоры), кодирующие синтез компонентов усво-

Таблица 1

Гены вирулентности *E. coli* O<sub>6</sub>:H<sub>1</sub> и O<sub>25</sub>:H<sub>4</sub>

Факторы вирулентности	Гены	O <sub>6</sub> :H <sub>1</sub> , n=194		95% ДИ	O <sub>25</sub> :H <sub>4</sub> , n=27		95% ДИ
		абс.	%		абс.	%	
Адгезия	<i>fimH</i>	187	96,4	92,7-98,5	27	100	87,2-100
	<i>sfa</i>	170	87,6	82,2-91,9	0	0,0	0-12,8
	<i>afa</i>	0	0,0	0-1,9	6	22,2	8,6-42,3
	<i>pap</i>	133	68,6	61,5-75,0	18	66,7	46,0-83,5
Токсины	<i>hly</i>	121	62,4	55,2-69,2	12	44,4	25,5-64,7
	<i>cnf</i>	145	74,7	68,0-80,7	12	44,4	25,5-64,7
Система усвоения Fe	<i>iutA</i>	190	97,9	94,8-99,4	27	100	87,2-100
	<i>fyuA</i>	186	95,9	92,0-98,2	27	100	87,2-100
	<i>chu</i>	194	100	98,1-100	27	100	87,2-100

Таблица 2

Штаммы *E. coli* O<sub>6</sub>:H<sub>1</sub> и *E. coli* O<sub>25</sub>:H<sub>4</sub>, нечувствительные к АМП

АМП	O <sub>6</sub> :H <sub>1</sub> , n=194			O <sub>25</sub> :H <sub>4</sub> , n=27		
	абс.	%	95% ДИ	абс.	%	95% ДИ
Ампициллин	70	36,1	29,3-43,3	27	100	87,2-100
Амоксилав	26	13,4	8,9-19,0	18	66,7	46,0-83,5
Цефтазидим	26	13,4	8,9-19,0	15	55,6	35,3-74,5
Цефотаксим	30	15,5	10,7-21,3	24	88,9	70,8-97,7
Цефепим	26	13,4	8,9-19,0	21	77,8	57,7-91,4
Меропенем	0	0	0-1,9	0	0	0-12,8
Налидиксовая кислота	12	6,2	3,2-10,6	21	77,8	57,7-91,4
Ципрофлоксацин	5	2,6	0,8-5,9	21	77,8	57,7-91,4
Гентамицин	9	4,6	2,1-8,6	9	33,3	16,5-53,9
Амикацин	4	2,0	0,6-5,2	6	22,2	8,6-42,3
Нитрофурантоин	0	0	0-1,9	0	0	0-12,8
Ко-тримоксазол	14	7,2	4-11,8	12	44,4	25,5-64,7

ния железа, такие как: *iutA*, *fyuA* (аэробактин, иерсинибактин), *chu* (гемин) содержат практически все штаммы *E. coli* O<sub>6</sub>:H<sub>1</sub> (95,9-100%) и O<sub>25</sub>:H<sub>4</sub> (100%).

Популяции *E. coli* O<sub>6</sub>:H<sub>1</sub> и *E. coli* O<sub>25</sub>:H<sub>4</sub> гетерогенны по набору генов вирулентности. Штаммы *E. coli* O<sub>6</sub>:H<sub>1</sub> содержат от четырёх до восьми генов: 7,2% (14 штаммов) содержат четыре гена, 24 (12,4%) – пять генов, 30 (15,5%) – шесть генов, 48 (24,7%) – семь генов и 78 (40,2%), соответственно. Суммарно более 80% штаммов содержат от шести до восьми генов вирулентности. В популяции *E. coli* O<sub>25</sub>:H<sub>4</sub> 44,4% (12 штаммов) содержат четыре гена, 12 штаммов (44,4%) – шесть генов, 3 штамма (11,2%) – семь генов вирулентности.

**Чувствительность штаммов *E. coli* O<sub>6</sub>:H<sub>1</sub> и *E. coli* O<sub>25</sub>:H<sub>4</sub> к АМП.** 60,3% штаммов *E. coli* O<sub>6</sub>:H<sub>1</sub> чувствительны ко всем тестируемым АМП, в отличие от *E. coli* O<sub>25</sub>:H<sub>4</sub>, среди которых сохранялась чувствительность только к карбапенемам (меропенему) и нитрофуранам. Статистически значимо чаще резистентность к тестируемому АМП встречалась у штаммов *E. coli* O<sub>25</sub>:H<sub>4</sub> (табл. 2). Среди изученных *E. coli* O<sub>6</sub>:H<sub>1</sub>, наибольшая доля чувствительных штаммов отмечена к амикацину и ципрофлоксацину (2,0 и 2,6% нечувствительных штаммов, соответственно), среди *E. coli* O<sub>25</sub>:H<sub>4</sub> – к аминогликозидам (амикацину – 77,8%, гентамицину – 66,7%).

Устойчивость к β-лактамам встречалась практически у всех изученных нечувствительных штаммов. Наибо-

лее выражена она к аминопенициллинам – 90,9% *E. coli* O<sub>6</sub>:H<sub>1</sub> и 100% *E. coli* O<sub>25</sub>:H<sub>4</sub>. Резистентность к амоксилаву отмечена у 13,4% *E. coli* O<sub>6</sub>:H<sub>1</sub> и 66,7% *E. coli* O<sub>25</sub>:H<sub>4</sub>. Цефалоспорины (ЦПС) III-IV поколения (цефтазидим, цефотаксим, цефепим) характеризовались активностью в отношении более 80% штаммов *E. coli* O<sub>6</sub>:H<sub>1</sub>. Среди штаммов *E. coli* O<sub>25</sub>:H<sub>4</sub> резистентность к ЦПС варьировала от 55,6% к цефтазидиму, 77,8% к цефепиму, 88,9% к цефотаксиму. Положительный тест с клавулановой кислотой выявлен у 57,1% *E. coli* O<sub>6</sub>:H<sub>1</sub> и 100% *E. coli* O<sub>25</sub>:H<sub>4</sub>, что свидетельствует о продукции этими штаммами БЛРС. У всех БЛРС продуцирующих штаммов, детектированы *bla* гены группы CTX-M. У штаммов *E. coli* O<sub>6</sub>:H<sub>1</sub> гены *bla*<sub>CTX-M</sub> принадлежат к трём кластерам. Наиболее распространены гены кластера *bla*<sub>CTX-M1</sub> (79,5%), реже выявляются *bla*<sub>CTX-M9</sub> (13,6%) и *bla*<sub>CTX-M8</sub> (6,9%). У штаммов *E. coli* O<sub>25</sub>:H<sub>4</sub> гены *bla*<sub>CTX-M</sub> принадлежат к одному кластеру *bla*<sub>CTX-M1</sub>.

К MDR фенотипу, в соответствии с международными критериями относились 57,1% (44 из 77) резистентных штаммов *E. coli* O<sub>6</sub>:H<sub>1</sub> и 100% штаммов *E. coli* O<sub>25</sub>:H<sub>4</sub> (27 штаммов). Фенотип XDR имеет каждый пятый MDR штамм *E. coli* O<sub>6</sub>:H<sub>1</sub> и *E. coli* O<sub>25</sub>:H<sub>4</sub> [24].

**Выявление эпидемически значимого ST131.** В ПЦР-ЭФ в мультиплексном формате у всех штаммов *E. coli* O<sub>25</sub>:H<sub>4</sub> выявлены гены (*pabBspe*, *trpA*), специфически принадлежащие к клону O25ST131 [21].

**Обсуждение.** *E. coli* относится к широко распространенным в природе микроорганизмам. Вид объединяет обширную группу бактерий близких по биологическим свойствам, тем не менее, насчитывается большое число штаммов (разновидностей), отличающихся по ферментативным, антигенным свойствам, чувствительности к бактериофагам и АМП, патогенности для человека. Инфекционные заболевания, вызванные *E. coli*, характеризуются полиморфизмом клинических проявлений, что обусловлено наличием генетических детерминант, кодирующих факторы вирулентности. *E. coli*, идентичные по ферментативным свойствам или серогруппе, могут различаться по набору генов вирулентности. В отличие от штаммов *Salmonella* spp. и *Shigella* spp., выделение *E. coli* с типичными биологическими свойствами из проб испражнений, не является бесспорным доказательством их этиологической роли, так как поиск патогенных *E. coli* проводится на фоне облигатных *E. coli* – представителей нормобиоты кишечника человека популяционной плотности  $10^7$ - $10^8$  КОЕ/гр фекалий [27, 28]. В 70-х годах прогрессом в установлении этиологического значения *E. coli* при ОКИ были исследования отечественных и зарубежных микробиологов на основе антигенных свойств штамма (О-, К-, Н антигены). В России и во многих странах организовано промышленное производство диагностических агглютинирующих О- и ОК-сывороток к антигенам патогенных *E. coli*. В обязательном порядке определение О- группы изолятов *E. coli*, выделенных из проб испражнений, внедрено в бактериологические лаборатории. В РФ выпускают наборы ОК сывороток и адсорбированных О сывороток (групповых и факторных) к 42 серогруппам патогенных *E. coli*. Гены вирулентности DEC обнаружены в штаммах, принадлежащих к более 100 серогруппам [29]. Штаммы некоторых серогрупп с одинаковой частотой выделяют от здоровых и больных диареей детей и взрослых [14]. С развитием молекулярных методов и внедрением их в диагностический процесс (детекция генов вирулентности патогрупп DEC) показано, что штаммы определенных серогрупп ( $O_{26}$ ,  $O_{55}$ ,  $O_{111}$ ) могут содержать гены вирулентности разных «патогрупп», например, ЕРЕС или ЕНЕС и этому есть научное объяснение [30, 31].

Особенностью эшерихиозов в Санкт-Петербурге на протяжении последних пяти лет (2014-2018 гг.) является доминирование в циркуляции штаммов *E. coli*  $O_6$ , на долю которых приходится от 25% (2014 г.) до 50% (2018 г.) всех выделенных патогенных *E. coli*. Эпидемиологическая особенность *E. coli*  $O_6$  заключается в их широкой циркуляции среди здорового населения (детей и взрослых) без клинических симптомов ОКИ, обследованных с профилактической целью. Наши исследования показали, что штаммы *E. coli*  $O_6:H_1$  и *E. coli*  $O_{25}:H_4$  не имеют генов ЕТЕС и других патогрупп DEC, поэтому они не могут относиться к возбудителям ОКИ. У этих штаммов выявлены гены, ассоциированные с внекишечными заболеваниями: каждый штамм содержит кластер генов, кодирующих различные адгезины (*fimH*, *sfa*, *afa*, *pap*), токсины (*hly*, *cnf*) сидерофоры (*iutA*, *fyuA*, *chu*), характерные для УРЕС, среди которых выявлены клинически значимые фенотипы резистентности (MDR и XDR).

В течение последних десяти лет появился и получил глобальное распространение как возбудитель внебольничных и внутрибольничных ИМП штамм *E. coli* сиквенс-типа 131 (ST131), с высоким потенциалом вирулентности и резистентности к АМП. Штамм *E. coli*

$O_{25}:H_4B_2$ , ST131 является ведущим возбудителем патогруппы ExPEC практически во всех странах мира [32, 33]. Данные многоцентрового международного проекта BARN (Baltic Antimicrobial Resistance Net – Сеть по надзору за антибиотикорезистентностью в странах Балтийского региона) проведенного в 2012-2014 гг. с участием семи многопрофильных стационаров Санкт-Петербурга по изучению БЛРС-продуцирующих штаммов *Enterobacteriaceae*, подтвердили широкое распространение *E. coli* ST131 [34, 35]. Нашими исследованиями установлено, что случаи выделения из проб испражнений здоровых лиц штаммов *E. coli*  $O_{25}$ , зарегистрированные как «носительство ЕТЕС», принадлежат к пандемическому международному клону высокого риска *E. coli*  $O_{25}:H_4B_2$  ST131, характеризующегося MDR и XDR. Полученные результаты показывают, что важным условием эффективности культурального исследования проб испражнений является адекватный выбор дополнительных молекулярных методов детекции DEC. Этиологическая значимость разных клинических форм заболеваний, обусловленных *E. coli*, определяется наличием генов вирулентности возбудителя.

Полученные данные представляют теоретический интерес и практическое значение для клиницистов, специалистов лабораторной службы и эпидемиологов.

#### **Выводы.**

1. Микробиота кишечника человека является «скрытым» резервуаром *E. coli* – возбудителей внекишечных инфекций, в том числе ИМП, ИСМП и др.

2. Микробиота кишечника является мощным резервуаром резистентных к АМП штаммов.

3. Мониторинг резистентности к АМП штаммов *E. coli*, выделенных при различных эпидемиологических ситуациях (ОКИ, ИСМП, внекишечные заболевания, дисбиотические состояния), выделенные из пищевых продуктов животного и растительного происхождения и объектов внешней среды, должен стать неотъемлемой частью в системе санитарно-эпидемиологического надзора в РФ.

4. Учитывая важную роль *E. coli* в патологии человека, необходимо пересмотреть существующие принципы и этапы бактериологического исследования проб испражнений: после выделения чистой культуры *E. coli* идентификация, наравне с фенотипическими методами, должна включать молекулярные методы (детекция генов вирулентности) для подтверждения этиологической значимости выделенного штамма *E. coli*.

5. Молекулярные методы расширяют аналитические и диагностические возможности лабораторной диагностики заболеваний, обусловленных *E. coli*.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Финансирование.** Исследование не имело спонсорской поддержки.

#### ЛИТЕРАТУРА (4-6, 10-13, 16-21, 24, 29, 32-34 см. REFERENCES)

1. Международная классификация болезней МКБ-10 [Электронный ресурс]. Режим доступа: <http://www.mkb10.ru>.
2. Санитарно-эпидемиологические правила СП 3.1.1.3108-13 «Профилактика острых кишечных инфекций».
3. Онищенко Г.Г., Дятлов И.А., Светоч Э.А., Воложанцев Н.В., Баннов В.А., Карцев Н.Н. и др. Молекулярно-генетическая характеристика шига-токсинпродуцирующих *Escherichia coli*, выделенных при вспышке пищевой инфекции в Санкт-Петербурге в 2013 году. *Вестник Российской академии медицинских наук*. 2015; 1: 70-81. Режим доступа: doi:10.15690/vramn.v70i1.1234.

7. Рафальский В.В. Антибиотикорезистентность возбудителей неосложнённых инфекций мочевых путей в Российской Федерации. *Вестник урологии*. 2018; 6(3): 50-6. Режим доступа: doi 10.21886/2308-6424-2018-6-3-50-56.
8. ВОЗ. Доклад «устойчивость к противомикробным препаратам: глобальный доклад по итогам эпиднадзора» [Электронный ресурс] Режим доступа: <http://www.euro.who.int/2014new-report-antibiotic-resistance-global-health-threat>.
9. ВОЗ. Список бактерий, для борьбы с которыми требуется создание новых антибиотиков [Электронный ресурс]. Режим доступа: <http://www.who.int/ru/news-room/detail/27-02-2017-who-publishes-list-of-bacteria-for-which-new-antibiotics-are-urgently-needed>.
14. Хазенсон Л.Б., Лосева А.Г. Колиэнтерит у детей раннего возраста. Л.: Медицина; 1976.
15. Методические рекомендации. Лабораторная диагностика колиэнтерита детей раннего возраста. МЗ РСФСР; 1985.
22. Клинические рекомендации «Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам». Режим доступа: <http://www.antibiotic.ru/minzdrav/files/docs/clrec-dsma2018.pdf>.
23. Эйдельштейн М.В. Выявление бета-лактамаз расширенного спектра у грамотрицательных бактерий с помощью фенотипических методов. *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия*. 2001; 3 (2): 183-9.
25. Сухорукова М.В., Эйдельштейн М.В., Склеенова Е.Ю., Иванчик Н.В., Тимохова А.В., Дехнич А.В., Козлов Р.С. Антибиотикорезистентность нозокомиальных штаммов *Enterobacteriaceae* в стационарах России: результаты многоцентрового эпидемиологического исследования МАРАФОН в 2011-2012 гг. *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия*. 2014; 16 (4): 254-65.
26. Казанцев А.В., Осина Н.А., Глинская Т.О., Кошелева О.Н., Максимов Ю.В., Девдариани З.Л. и др. Факторы вирулентности и филогенетическая характеристика уропатогенных штаммов *Escherichia coli*, выделенных на территории г. Саратова. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2019; 4: 56-60.
27. Отраслевой стандарт «Протокол ведения больных. Дисбактериоз кишечника». ОСТ 1500.11.0004-2003. Приказ МЗ РФ № 231 от 09.06.2003.
28. Иванова Е.И., Попкова С.М., Джиоев Ю.П., Долгих В.В., Ракова Е.Б., Бухарова Е.В. Детекция некоторых генов, кодирующих факторы патогенности у типичных изолятов *Escherichia coli*. *Бюллетень ВСНЦ СО РАМН*. 2014; 5(99): 89-94.
30. МУК 4.2.2963-11 Методические указания по лабораторной диагностике заболеваний, вызываемых *Escherichia coli*, продуцирующих шига-токсины (STEC-культуры), и обнаружению возбудителей STEC- инфекций в пищевых продуктах. М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора; 2011.
31. Макарова М.А., Дмитриев А.В., Матвеева З.Н., Кафтырева Л.А. Молекулярно-генетическая характеристика штаммов *Escherichia coli* серогруппы O26, вызывающих диарейные заболевания у детей. *Медицинский академический журнал*. 2018; 18 (3): 85-90.
35. Егорова С.А., Кафтырева Л.А., Липская Л.В., Коноваленко И.Б., Пясецкая М.Ф., Курчикова Т.С. и др. Штаммы энтеробактерий, продуцирующие бета-лактамазы расширенного спектра и металло-β-лактамазу NDM-1, выделенные в стационарах в странах Балтийского региона. *Инфекция и иммунитет*. 2013; 3(1): 29-36.
5. Sarowska J., Futoma-Koloch B., Jama-Kmiecik A., Frej-Madrzak M., Ksiaczek M., Bugla-Ploskonska G. et al. Virulence factors, prevalence and potential transmission of extraintestinal pathogenic *Escherichia coli* isolated from different sources: recent reports. *Gut Pathog.* 2019; 11:10. Available at: doi.org/10.1186/s13099-019-0290-0.
6. Russo T., Johnson J. Medical and economic impact of extraintestinal infections due to *Escherichia coli*: an overlooked epidemic. *Microbes and Infect.* 2003; 5: 449–56.
7. Rafalsky V.V. Antibiotic resistance of pathogens causing uncomplicated urinary tract infections in Russian Federation. *Vestnik urologii*. 2018; 6(3): 50-6. Available at: doi 10.21886/2308-6424-2018-6-3-50-56. (in Russian)
8. WHO report «Antimicrobial resistance: global report on surveillance». April 2014; Available at: <http://www.euro.who.int/2014new-report-antibiotic-resistance-global-health-threat>.
9. WHO published list of bacteria for which new antibiotics are urgently needed. News Release 27.02.2017. Available at: <http://www.who.int/ru/news-room/detail/27-02-2017-who-publishes-list-of-bacteria-for-which-new-antibiotics-are-urgently-needed>.
10. Tamura K., Sakazaki R., Murase M., Kosako Y. Serotyping and categorization of *Escherichia coli* strains isolated between 1958 and 1992 from diarrhoeal diseases in Asia. *Med. Microbiol.* 1996; 45: 353-8.
11. Poolman J.T., Wacker M. Extraintestinal pathogenic *Escherichia coli*, a common human pathogen: challenges for vaccine development and progress in the field. *Infect. Dis.* 2015; Available at: DOI: 10.1093/infdis/jiv429.
12. Wolf M.K. Occurrence, distribution, and associations of O and H serogroups, colonization factor antigens, and toxins of enterotoxigenic *Escherichia coli*. *Clin. Microbiol. Rev.* 1997; 10 (4): 569-84.
13. Kaper, J.B., Nataro J.P., Mobley H.L. Pathogenic *E.coli*. *Nat. Rev. Microbiol.* 2004; 2: 123-40.
14. Hazenson L.B., Loseva A.G. Colienteritis in young children. *Leninград: Meditsina*; 1976. (in Russian)
15. Guidelines «Laboratory diagnosis of colienteritis in young children» *Minzdrav RSFSR*;1995. (in Russian)
16. Li D., Liu B., Chen M., Guo D., Guo X., Liu F., et al. A multiplex PCR method to detect 14 *Escherichia coli* serogroups associated with urinary tract infections. *Microbiol. Methods.* 2010; 82(1): 71-7. Available at: doi: 10.1016/j.mimet.2010.04.008.
17. Banjo M., Iguchi A., Seto K., Kikuchi T., Harada T., Scheutz F. et al. *Escherichia coli* H-genotyping PCR: a complete and practical platform for molecular H typing. *Clin. Microbiol.* 2018; 56(6): e00190-18. Available at: doi: 10.1128/JCM.00190-18.
18. Clermont O., Bonacorsi S., Bingen E. Rapid and simple determination of the *Escherichia coli* phylogenetic group. *Appl. Environ. Microbiol.* 2000; 66(10): 4555-8. Available at: doi:10.1128/aem.66.10.4555-4558.2000.
19. Johnson J.R., Stell A.L. Extended virulence genotypes of *Escherichia coli* strains from patients with urosepsis in relation to phylogeny and host compromise. *Infect. Dis.* 2000; 181: 261-72.
20. Dallenne C., Da Costa A., Decre D., Favier C., Arlet G. Development of a set of multiplex PCR assays for the detection of genes encoding important β-lactamases in Enterobacteriaceae. *Antimicrob. Chemother.* 2010; 65: 490-5. Available at: doi:10.1093/jac/clk498
21. Clermont O., Dhanji H., Upton M., Gidreel T., Fox A., Boyd D. et al. Rapid detection of the O25b-ST131 clone of *Escherichia coli* encompassing the CTX-M-15-producing strains. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2009; 64: 274-7. Available at: doi:10.1093/jac/clk194.
22. Guidelines «Antimicrobial susceptibility testing of microorganisms». Available at: <http://www.antibiotic.ru/minzdrav/files/docs/clrec-dsma2018.pdf>. (in Russian)
23. Edelstein M.V. Detection of extended-spectrum beta-lactamases in gram-negative bacteria using phenotypic methods. *Klinicheskaya mikrobiologiya i antimikrobnaya khimioterapiya*. 2001; 3 (2): 183-9. (in Russian)
24. Magiorakos AP., Srinivasan A., Carey R.B., Carmeli Y., Falagas M.E., Giske C.G., et al. Multidrug-resistant, extensively drug-resis-

## REFERENCES

1. The International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems. 10<sup>th</sup> revision (ICD-10). Available at: <http://www.mkb10.ru>. (in Russian)
2. Sanitary and epidemiological rules SP 3.1.1.3108-13 “Prevention of acute intestinal infections”. (in Russian)
3. Onishchenko G.G., Dyatlov I.A., Svetoch E.A., Volozhantsev N.V., Bannov V.A., Kartsev N.N. et al. Molecular-genetic characterization of shiga-toxin producing *Escherichia coli* isolated during a food-borne outbreak in St. Petersburg in 2013. *Vestnik Rossiiskoy Akademii Meditsinskikh Nauk*. 2015; 1: 70-81. Available at: doi:10.15690/vramn.v70i1.1234. (in Russian)
4. Nataro J.P., Kaper J.B. Diarrheagenic *Escherichia coli*. *Clin. Microbiol. Rev.* 1998; 11: 142-201.

- tant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definition for acquired resistance. *Clin. Microbiol. Infect.* 2012; 18 (3): 268-81.
25. Sukhorukova M.V., Edelstein M.V., Skleenova E.Yu., Ivanchik N.V., Timokhova A.V., Dekhnich A.V., Kozlov R.S. Antimicrobial resistance of nosocomial *Enterobacteriaceae* isolated in Russia: results of National multicenter surveillance study «MARATHON» 2011-2012. *Klinicheskaya mikrobiologiya I antimikrobnaya khimioterapiya*. 2014; 16 (4): 254-65. (in Russian)
  26. Kazantsev A.V., Osina N.A., Glinskaya T.O., Kosheleva O.N., Maksimov Yu.V., Devdariani Z.L. et al. Virulence factors and phylogenetic characteristics of uropathogenic *Escherichia coli* strains isolated in Saratov. *Problemy osobo opasnykh infektsiy*. 2019; 4: 56-60. (in Russian)
  27. Industry Standard «Treatment Protocol. Intestinal dysbiosis» OST 1500.11.0004-2003. Order of the Ministry of Health of Russian Federation № 231 of 09.06.2003.
  28. Ivanova E.I., Popkova S.M., Dzhoiev Yu.P., Dolgikh V.V., Rakova E.B., Bukharova E.V. Detection of same genes encoding pathogenicity factors in the typical isolated of *Escherichia coli*. *Byulleten' VSNK SO RAMN*. 2014; 5(99): 89-94. (in Russian)
  29. Bergey's Manual of systematic bacteriology. XXVIII. 2005. Available at: eBook Packages *Biomedical and Life Sciences*. DOI <https://doi.org/10.1007/0-387-28022-7> Online ISBN 978-0-387-28022-6.
  30. Guidelines MUK 4.2.2963-11 «Guidelines for laboratory diagnosis of diseases caused by *Escherichia coli*, producing Shiga-toxin (STEC-culture), and the detection of causative agents of STEC-infections in food products. Moscow: Federalnyi Tsentr gigeny i epidemiologii Rospotrebnadzora; 2011. (in Russian)
  31. Makarova M.A., Dmitriev A.V., Matveeva Z.N., Kaftyreva L.A. Molecular-genetic characteristics of strain *Escherichia coli* serogroup O<sub>26</sub> causing diarrheal diseases in children. *Meditinskiy akademicheskii zhurnal*. 2018; 18 (3): 85-90. (in Russian)
  32. Park J.Y., Yun K.W., Choi E.H., Lee H.J. Prevalence and characteristics of sequence type 131 *Escherichia coli* isolated from children with bacteremia in 2000-2015. *Microb. Drug Resist.* 2018; 24(10): 1552-8. Available at: <http://doi.org/10.1089/mdr.2017.0224>.
  33. Sepp E., Andreson R., Balode A., Bilozor A., Brauer A., Egorova S. et al. Phenotypic and molecular epidemiology of ESBL-, AmpC-, and carbapenemase-producing *Escherichia coli* Northern Europe. *Front. Microbiol.* 2019. Available at: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02465>.
  34. Lillo J., Pai K., Balode A., Makarova M., Huik K., Kõljalg S. et al. Differences in extended-spectrum beta-lactamase producing *Escherichia coli* virulence factor genes in the Baltic Sea region. 2014. *BioMed Research International*. Article ID 427254, 7 pages. Available at: <http://dx.doi.org/10.1155/2014/427254>.
  35. Egorova S.A., Kaftyreva L.A., Lipskaya L.V., Konovalenko I.B., Pyasetskaya M.F. Kurchikova T.S. et al. Enterobacteriaceae, producing ESBL and metallo-β-lactamase NDM-1, isolated in hospitals of Baltic region countries. *Zhurnal Infektsiya i immunitet*. 2013; 3(1): 29-36. (in Russian)

Поступила 10.04.20

Принята к печати 13.04.20