

Фрагменты генов «островов» патогенности *Escherichia coli* у клинических штаммов условно-патогенных представителей *Enterobacteriaceae* и клинико-лабораторные особенности острых кишечных инфекций

Р.Т.Мурзабаева, А.Р.Мавзютов, Д.Н.Дубровская

ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет», Уфа, Российская Федерация

В работе проведена сравнительная оценка частоты встречаемости фрагментов генов «островов» патогенности (ФГОП), ассоциированных с патогенностью *E. coli*, в геномах клинических штаммов условно-патогенных представителей *Enterobacteriaceae* (УПЭ) и клинико-лабораторных особенностей связываемых с ними острых кишечных инфекций (ОКИ) у взрослых. Обследовано 123 пациента с ОКИ, ассоциированными с УПЭ. В результате молекулярно-генетического исследования у 49 из 123 клинических штаммов УПЭ (39,84%) выявлены ФГОП. Указанные генетические особенности установлены у 8 из 10 штаммов *E. coli* (80%), изолированных при легких формах ОКИ, при средне-тяжелых ОКИ – в 32 из 103 случаев (31,1%, у *K. pneumoniae*) и при тяжелых – в 9 из 10 случаев (90%, у *Proteus spp.*). Установлена прямая, средней силы, корреляционная связь ($r^* = 0,41$, $p < 0,001$) и сильное влияние всей совокупности частоты обнаружения ФГОП у клинических штаммов УПЭ на тяжесть течения ОКИ. Показаны положительные связи между частотой обнаружения фрагментов генов *hlyA*, *hlyB*, *hlyD* у клинических штаммов УПЭ и уровнем лихорадки, продолжительностью болей в животе и величиной скорости оседания эритроцитов (СОЭ) у больных ОКИ, что может указывать на их участие в развитии интоксикации и диареи.

Ключевые слова: «острова» патогенности, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *E. aerogenes*, *Proteus spp.*, острые кишечные инфекции, клинико-лабораторные показатели

Для цитирования: Мурзабаева Р.Т., Мавзютов А.Р., Дубровская Д.Н. Фрагменты генов «островов» патогенности *Escherichia coli* у клинических штаммов условно-патогенных представителей *Enterobacteriaceae* и клинико-лабораторные особенности острых кишечных инфекций. Бактериология. 2017; 2(4): 30–35. DOI:10.20953/2500-1027-2017-4-30-35

Fragments of pathogenicity islands genes of *Escherichia coli* of in clinical strains of opportunistic *Enterobacteriaceae* and clinical and laboratory features of acute intestinal infections

R.T.Murzabaeva, A.R.Mavzyutov, D.N.Dubrovskaya

Bashkir State Medical University, Ufa, Russian Federation

The research compares the incidence of gene fragments of pathogenicity islands (PIGF) associated with pathogenic *E. coli* in genomes of clinical opportunistic enterobacterial strains (OE) as well as clinical and laboratory characteristics of relevant acute intestinal infections (All) in adults. 123 patients suffering from acute intestinal infections caused by OE have been examined. A molecular-genetic research has identified PIGF in 49 (39.84%) of 123 clinical strains of opportunistic enterobacteria. These genetic features have been found in 8 of 10 *E. coli* (80%), in 32 of 103 *K. pneumoniae* (31.1%), and in 9 of 10 *Proteus spp.* strains for mild, moderate severity and sever forms of acute intestinal infections. There is a direct medium-strength correlation ($r = 0.41$, $p < 0.001$) and also a strong effect of the total incidence of PIGF in the clinical strains on the severity of the infections. There have been found positive correlations between the frequency of *hlyA*, *hlyB*, *hlyD* gene fragments in the opportunistic enterobacteria and intensity of fever, duration of abdominal pain and ESR index in the patients, suggesting their involvement into developing intoxication and diarrhea.

Keywords: pathogenicity islands, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *E. aerogenes*, *Proteus spp.*, acute intestinal infections, clinical -and-laboratory indices

For citation: Murzabaeva R.T., Mavzyutov A.R., Dubrovskaya D.N. Fragments of pathogenicity islands genes of *Escherichia coli* of in clinical strains of opportunistic *Enterobacteriaceae* and clinical and laboratory features of acute intestinal infections. Bacteriology. 2017; 2(4): 30–35. (In Russian). DOI:10.20953/2500-1027-2017-4-30-35

Для корреспонденции:

Мавзютов Айрат Радикович, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой фундаментальной и прикладной микробиологии ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет»

Адрес: 450008, Уфа, ул. Ленина, 3
Телефон: (347) 276-1960
E-mail: ufalab@mail.ru

Статья поступила 24.10.2017 г., принята к печати 22.12.2017 г.

For correspondence:

Airat R. Mavzyutov, MD, PhD, DSc, professor, chief of department of fundamental and applied microbiology, Bashkir State Medical University

Address: 3 Lenina Str., Ufa, 450008, Russian Federation
Phone: (347) 276-19-60
E-mail: ufalab@mail.ru

The article was received 24.10.2017, accepted for publication 22.12.2017

До настоящего времени повсеместно сохраняется актуальность диарейных заболеваний. На территории Российской Федерации (РФ) в структуре инфекционной патологии они занимают второе место после острых респираторных вирусных инфекций. По-прежнему высока летальность, связанная с диареями, у детей в возрасте до 5 лет [1]. В США ежегодно регистрируется до 179 млн случаев острых кишечных инфекций (ОКИ), при этом на долю населения старших возрастных групп приходится до 83% случаев с летальным исходом [2]. Несмотря на возрастание в последние годы количества расшифрованных случаев вирусных диарей (до 60%) [3], не снижается эпидемиологическое значение условно-патогенных представителей *Enterobacteriaceae* (УПЭ) [4–8]. В частности, в 2016 г. доля острых диарей, ассоциируемых с УПЭ, по РФ в целом составила 9,5%, в отдельных субъектах колебалась от 5 до 29,3%, однако отношение к ним остается неоднозначным. До настоящего времени не существует единого взгляда на патогенность УПЭ, что существенно затрудняет оценку этиологической значимости клинических штаммов, выделяемых от больных, и снижает эффективность противоэпидемических мероприятий [4, 9].

Вместе с тем не вызывает сомнения существование конкретных генетически обусловленных механизмов изменения патогенности энтеробактерий [10, 11]. Определенные перспективы в этом направлении обозначились в связи с установлением феномена группирования ряда структурных и регуляторных генов, детерминирующих патогенность микроорганизмов, в мобильные кластеры («островки» и «острова» патогенности), способные к горизонтальному и вертикальному перемещению и встраиванию в определенные сайты бактериальной ДНК («горячие точки»). Полагают, что данный механизм изменения патогенности бактерий играет важную роль в эволюции условно-патогенных видов и селекции патогенных вариантов [12]. Фрагменты, гомологичные известным генам кластеров патогенности *E. coli*, были обнаружены в составе геномной ДНК представителей УПЭ, выделенных при ОКИ у детей и при сальмонеллезах у взрослых [4, 13]. В этой связи определенный интерес могут представлять клиничко-экспериментальные параллели между частотой встречаемости генетических маркеров патогенности клинических штаммов УПЭ и клиничко-лабораторными данными пациентов, от которых они выделялись.

Цель исследования – сравнительная оценка частоты встречаемости фрагментов генов «островов» патогенности (ФГОП), ассоциированных с патогенностью *E. coli*, в геномах клинических штаммов УПЭ и клиничко-лабораторных особенностей связываемых с ними ОКИ у взрослых.

Материалы и методы

Оценка клиничко-лабораторных данных проводилась у 123 пациентов с ОКИ, вызванными УПЭ, пролеченных в клиничко-инфекционной больнице №4 г. Уфы. Коллекция клиничко-штаммов УПЭ была сформирована в ходе бактериологического исследования фекалий обследуемых с использованием питательных сред (Эндо, Левина) отечественного производства (ФБУН ГНЦ ПМБ, Россия). Идентификацию культур осуществляли по биохимическим при-

знакам с использованием сред Гисса и систем для ускоренной идентификации (СИБ, ПБДЭ) (НПО «Диагностические системы», г. Н. Новгород).

Критериями исключения пациентов из анализируемой выборки были факты культурального выявления в фекалиях патогенных бактерий (*Shigella spp.*, *Salmonella spp.*) при использовании дифференциально-диагностических питательных сред (Бактоагар Плоскирева, ЭМС-агар и др.) (ФБУН ГНЦ ПМБ, Россия), положительные результаты РНГА с сальмонеллезными и шигеллезными диагностикумами (ФГУП «НПО «Микроген»), случаи выделения из испражнений культуральным методом диареогенных *Escherichia spp.* (агар Эндо-ГРМ, ЭМС-агар), верифицированных в РА с диагностическими поливалентными ОК-сыворотками (ОАО «БИОМЕД», Москва). Вирусная этиология диарей у обследованных исключалась методом ПЦР с применением наборов реагентов «АмплиСенс Rotavirus/Norovirus/Astrovirus – FL» для выявления в фекалиях РНК ротавирусов группы А, норовирусов 2 генотипа и астровирусов (ООО «ИнтерЛабСервис», Россия).

Тотальную бактериальную ДНК выделяли из суточной агаровой культуры, используя стандартные наборы «ДНК-сорб-АМ» («ИнтерЛабСервис», Москва). ПЦР проводилась в амплификаторе МС-16 «Терцик» («ДНК-технология», Россия). Были использованы подобранные нами праймеры к ряду генов, обнаруженных в составе «островов» патогенности *E. coli*, контролирующих продукцию гемолизина – *hlyA* (F-gaaagatcagtcctcattaccagcaaca/R-agcggctattcccatcttctctat); *hlyB* (F-acgtcatggtgctgctgcaaatctt/R-ggcacccaactcaacatcaatccgact); *hlyD* (F-tggggttctggtattgctttatctgt/R-actgctcgcagctatttctcctgctca); цитолетального расширяющего токсина – *cdtB* (F-cagggctcaaatgcaccgacagaaaataaatg/R-taacaacccaataacagcgaagcc ctcaaca); адгезин-интимина – *eae* (F-cctggtagctgtgctgctttggctt cc/R-taaactatactcggattcctctggtgacgat); фактора персистенции – *ivy* (F-tgcaaaaggcgcaaacaccacaa/R-gtcacgscgcaacaacacc) и синтезированных на базе ООО «Биоскрин», Россия.

Качество и размеры амплифицированных фрагментов ДНК оценивали электрофоретически в 1% агарозном геле. Гели окрашивали бромистым этидием и фотографировали при помощи фотодокументирующей системы Gel Camera System (UVP, Inc. США). Статистическая обработка результатов проводилась с применением современных программных пакетов Biostatistica и Statistica 7.0.

Результаты и обсуждение

Под наблюдением находились 123 пациента в возрасте от 18 до 50 лет с ОКИ, при которых были выявлены только УПЭ. Клиничко-диагноз выставлялся на основании анализа комплекса клиничко-эпидемиологических, бактериологических и серологических данных.

Клиничко-все случаи ОКИ протекали в виде гастроэнтерита (83%) и гастрита (17%). В 83,7% случаев регистрировалось среднетяжелое, в 8,15% – легкое и в 8,15% – тяжелое течение заболевания.

В ходе культурального исследования было выделено 123 клиничко-штамма УПЭ, среди которых были идентифицированы *K. pneumoniae* (65,0% случаев), *E. aerogenes*

(22,7% случаев), *Proteus spp.* (*Proteus mirabilis* – 66,7% случаев), *Proteus vulgaris* (33,3% случаев).

При легкой форме заболевания в 8 случаях были выделены *E. aerogenes*, в двух – *K. pneumoniae*. При среднетяжелом течении ОКИ чаще обнаруживались *K. pneumoniae* (73,8%), реже – *E. aerogenes* (17,5%), в единичных случаях — *Proteus vulgaris* (8,7%). При тяжелых формах ОКИ были выявлены *Proteus mirabilis* (6 шт.), по 2 штамма (по 20%) *K. pneumoniae* и *E. aerogenes* и один штамм *Proteus vulgaris*.

В результате молекулярно-генетического тестирования культур у 39,8% изолятов УПЭ были обнаружены нуклеотидные последовательности, гомологичные фрагментам генов, детерминирующих способность бактерий синтезировать гемолизины (*hlyA*, *hlyB*, *hlyD*), цитолетальный расширяющий токсин (*cdtB*), адгезин-интимин (*eae*) и фактор персистенции (*ivy*). Наиболее часто в наших исследованиях определялись ФГОП *hlyA*, *hlyB* и *hlyD* (19,5%), частота их выявления составила для *hlyA* – 6,5%, *hlyB* – 7,3% и *hlyD* – 5,7%. Фрагменты, комплементарные ФГОП *ivy*, обнаружены у 12,3% изолятов, *cdtB* – у 4,1% и *eae* – у 4,1%.

При изучении частоты обнаружения ФГОП в зависимости от видовой принадлежности культур УПЭ установлено, что с наибольшей частотой (10 из 15 штаммов) искомые генетические детерминанты несли *Proteus spp.* (66,7%), 18 из 28 штаммов *E. aerogenes* (64,3%). Значительно реже ФГОП обнаруживались у *K. pneumoniae* (26,3%), что было статистически значимо реже, нежели у *Proteus spp.* ($p = 0,003$) и *E. aerogenes* ($p < 0,001$) (табл. 1).

Штаммы *E. aerogenes* и *K. pneumoniae*, изолированные от пациентов с легкой формой ОКИ, характеризовались наличием искомых генетических детерминант в 7 из 10 и в 1 из 2 случаев соответственно. Среди больных со среднетяжелым течением диареи у 31,1% из выделенных клинических штаммов УПЭ обнаруживались ФГОП. Изоляты *K. pneumoniae*

несли искомые генетические детерминанты в 17,5%, *E. aerogenes* и *Proteus spp.* – в 8,7% и 4,9% случаях соответственно. При тяжелом течении заболевания у выделенных штаммов УПЭ в целом ФГОП определялись с наибольшей частотой (90%).

В результате частотно-дисперсионного анализа характера взаимосвязей между частотой встречаемости ФГОП у клинических штаммов УПЭ и степенью тяжести ОКИ у пациентов показано, что в случаях, ассоциированных с *Proteus spp.*, ФГОП в бактериальных геномах обнаруживались в 66,7% случаев (табл. 2).

При этом была выявлена прямая корреляционная связь средней силы ($r^* = 0,37$, $p = 0,046$) и значимое влияние частоты обнаружения генетических детерминант вирулентности на тяжесть заболевания – 22% ($\eta^2 = 22\%$; $F = 17,4$; $p < 0,001$).

При ОКИ, ассоциированной с *K. pneumoniae*, у которых ФГОП были обнаружены в 26,3% случаев, сила влияния частоты выявления указанных генетических вариантов бактерий данного вида на степень тяжести болезни была низкой и составила 1% ($\eta^2 = 1,0\%$; $F = 0,7$; $p > 0,05$), чем, по-видимому, обусловлено преобладание среднетяжелых форм болезни. У пациентов с ОКИ, связываемыми с *E. aerogenes*, выявлена прямая, средней силы, значимая корреляционная связь ($r^* = 0,46$, $p < 0,001$) и значительное, средней силы влияние частоты обнаружения ФГОП, выявленных у 64,3% штаммов *E. aerogenes*, на тяжесть течения заболевания (21,0% ($\eta^2 = 21,0\%$; $F = 16,9$; $p < 0,001$)). Установлена прямая, средней силы, корреляционная связь ($r^* = 0,41$, $p < 0,001$) и сильное влияние всей совокупности частоты обнаружения ФГОП, выявленных у 49 изолятов УПЭ, с которыми связывали этиологию ОКИ у исследуемых пациентов, на тяжесть заболевания (17% ($\eta^2 = 17,0\%$; $F = 12,0$; $p < 0,001$)).

Для определения патогенетической роли генетических детерминант в развитии клинических проявлений ОКИ, ас-

Таблица 1. Частота встречаемости ФГОП в зависимости от вида возбудителя острых кишечных инфекций

Виды УПЭ	Частота встречаемости фрагментов генов «островов» патогенности, абс. ч. и %						Итого	η^2 (%)	F, p , r^*
	<i>cdtB</i>	<i>eae</i>	<i>ivy</i>	<i>hlyA</i>	<i>hlyB</i>	<i>hlyD</i>			
<i>K. pneumoniae</i> , n = 80	0	0	12	3	3	3	21 (26,3%)	8,9	4,24 $p = 0,117$ $r^* = 0,30$ $p = 0,006$
<i>E. aerogenes</i> , n = 28	5	5	3	2	2	1	18 (64,3%)	7,4	1,04 $p = 0,896$ $r^* = 0,27$ $p = 0,165$
<i>Proteus spp.</i> , n = 15	0	0	0	3	4	3	10 (66,7%)	5,5	1,15 $p = 0,674$ $r^* = 0,24$ $p = 0,389$
Всего, n = 123	5/4,1%	5/4,1%	15/12,3%	8/6,5%	9/7,3%	7/5,7%	49 (39,8%)	15,0	10,24 $p = 0,006$ $r^* = 0,37$ $p < 0,001$

Примечание: η^2 – сила влияния фактора; F – критерий Фишера; p – уровень значимости, r^* – коэффициент канонической корреляции.

Таблица 2. Сила влияния УПЭ на частоту выделения 6 видов ФГОП у возбудителей при острых кишечных инфекциях

Возбудитель	Степень тяжести			Итого ФГОП	η^2	F	p	r^*
	Легкая, n = 10	Среднетяжелая, n = 103	Тяжелая, n = 10					
<i>K. pneumoniae</i> , n = 80	1	18 (17,5%)	2	21	1,0	0,7	>0,05	0,10 ($p = 0,929$)
<i>E. aerogenes</i> , n = 28	7	9 (8,7%)	2	18	21,0	16,9	<0,001	0,46 ($p = 0,013$)
<i>Proteus spp.</i> , n = 15	0	5 (4,9%)	5	10	22,0	17,4	<0,001	0,37 ($p = 0,046$)
Всего, n = 123	8	32 (31,1%)	9	49	17,0	12,0	<0,001	0,41 ($p < 0,001$)

Примечание: η^2 – сила влияния фактора, F – критерий Фишера, p – уровень значимости, r^* – коэффициент канонической корреляции.

социированных с высевом УПЭ, исследуемые пациенты были разделены на 2 группы без учета степени тяжести заболевания и вида возбудителя. В первую группу включили пациентов, от которых изолированы УПЭ, несущие генетические детерминанты патогенности: *cdtB*, *eae*, *ivy*, *hlyA*, *hlyB*, *hlyD*, а во вторую – больных, от которых были выделены штаммы бактерий, не содержащих искомым ФГОП. Сравнимые группы были сопоставимы по возрасту и локализации воспалительного процесса в желудочно-кишечном тракте. В клинических проявлениях заболевания в сравниваемых группах выявлены отличия (табл. 3).

В 1-й группе пациентов имели место более продолжительная лихорадка ($p < 0,01$) и ряд проявлений интоксикации, проявлялись симптомы гастроэнтерита, сохранявшиеся достаточно длительное время (продолжительность диареи, $p < 0,01$; болей в животе, $p < 0,01$; рвоты, $p < 0,01$).

При оценке показателей общего анализа крови пациентов в динамике болезни показан более выраженный лейкоцитоз у больных 1-й группы в остром периоде болезни, чем у пациентов группы сравнения ($p < 0,02$), что может свидетельствовать об интенсивности воспалительного процесса. Однако по другим параметрам крови статистически значимых различий не выявлено.

В группе больных с обнаружением УПЭ, включавших фрагменты генов, гомологичных некоторым генетическим детерминантам вирулентности, в отдельности выявлены статистически значимые корреляционные взаимосвязи (по критерию Спирмена и линейной регрессии) между частотой обнаружения *hlyD* и высокой лихорадкой ($r = 0,35$; $p < 0,05$), *hlyA* и величиной СОЭ ($r = 0,19$; $p = 0,035$), *hlyB* и продолжительностью болей в животе ($r = 0,20$; $p = 0,026$) (табл. 4).

Таким образом, есть определенные основания полагать, что у пациентов, от которых были изолированы УПЭ, несущие ФГОП, заболевание отличается более тяжелым течением с выраженными симптомами интоксикации и поражения желудочно-кишечного тракта, что согласуется с выявленными ранее изменениями цитокинового профиля при ОКИ, вызванных энтеробактериями [14].

Фенотипическая характеристика условно-патогенных бактерий достаточно давно и успешно используется для оценки их этиологической значимости и для эпидемиологической расшифровки вспышек [14–17]. Наряду с указанным, существует еще один важный аспект вирулентности микроорганизмов, обусловленный их детерминированностью особыми мобильными элементами, именуемыми «острова», или «островки» патогенности [18]. И высказывалось предположение о том, что горизонтальный перенос мобильных генов «островов» патогенности может вносить весомый вклад в пластичность генома УПЭ, определяющую изменение их патогенного потенциала [12, 19]. Полученные нами результаты по оценке частоты обнаружения генетических детерминант вирулентности у УПЭ, ассоциируемых с синтезом гемолизина, цитотоксинов, адгезинов и факторов персистенции, согласуются с данными литературы. На начальном этапе ОКИ эффективность связывания возбудителя с рецепторами эпителиоцитов (адгезия) с последующим размножением в зоне инфицирования определяют фимбриальные адгезины [20]. Фактор адгезии *eae* обнаруживается и у

E. aerogenes, *C. freundii* и *H. alvei* [15]. Устойчивость к факторам защиты организма и длительную персистенцию в кишечнике после его колонизации энтеробактериям обеспечивают гемолизины и вещества, инактивирующие лизоцим (фактор *ivy*) [16, 21, 22].

У представителей семейства *Enterobacteriaceae* обнаружены токсины, нарушающие цитоскелет эпителиальных клеток путем реорганизации нитей F-актина: цитолетальный расширяющий токсин (*cdtA*, *cdtB*), цитотоксины, вызывающие гибель клеток (шига- и шигаподобные токсины, гемолизины) [23–25]. Гемолизины формируют каналы (или поры) в мембране клеток с нарушением секреции–всасывания электролитов через плазматическую мембрану, участвуют во внутриклеточном размножении возбудителя, развитии воспалительного процесса и диареи, оказывают токсическое действие [4, 17]. У *E. aerogenes* обнаружен цитотоксический некротизирующий фактор 1 (*cnf1*), который ассоциируется с энтеритами и внекишечными инфекциями (септицемия и пиелонефрит). Показано, что совместный эффект хромосомного гена в сцепке с генами *hly* и фимбриальным геном *prs* оказывает патологическое действие [26, 27].

В последние годы появились новые данные, подтверждающие положение о переносах генов островов патогенности, определяющих пластичность генома УПЭ. В частности, возможность латерального переноса генов была показана для грамположительных бактерий [28], включая перенос генов между разными (*St. aureus*–*St. epidermidis*) и филогенетически достаточно удаленными видами (*St. aureus*–*L. monocytogenes*)

Таблица 3. Клиническая картина острых кишечных инфекций в группах больных в зависимости от присутствия ФГОП в выделенных культурах УПЭ

Показатели	Средняя продолжительность симптомов (в днях), $M \pm t$		p – уровень значимости
	1-я группа, $n = 49$	2-я группа, $n = 74$	
Пребывание в стационаре	10,5 ± 1,21	9,91 ± 1,04	>0,5
Продолжительность лихорадки (38°С и более)	1,96 ± 0,12	1,45 ± 0,10	<0,01
Длительность жидкого стула	3,69 ± 0,37	2,22 ± 0,21	<0,01
Длительность болевого синдрома	2,9 ± 0,22	1,92 ± 0,20	<0,01
Длительность рвоты	2,03 ± 0,28	1,12 ± 0,19	<0,01
Возраст средний	28,1 ± 0,28	27,9 ± 0,31	>0,5
Показатели общего анализа крови при поступлении в стационар			
СОЭ	11,8 ± 1,21	10,2 ± 1,1	>0,5
Лейкоциты	9,2 ± 0,56	7,43 ± 0,46	<0,02
Эритроциты	4,02 ± 0,58	4,06 ± 0,58	>0,5
Гемоглобин	138,6 ± 14,90	140,8 ± 15,71	>0,5
Тромбоциты	204,5 ± 21,16	201,8 ± 19,40	>0,5
Примечание: 1-я группа – больные с ОКИ с наличием ФГОП в геноме выделенных штаммов УПЭ; 2-я группа – пациенты с отсутствием генетических детерминант патогенности у клинических культур возбудителя.			

Таблица 4. Корреляционные взаимосвязи между признаками в группе больных с наличием генетических детерминант в геноме изолятов УПЭ

Признаки	Признаки	Критерий Спирмена, уровень значимости
<i>ivy</i>	<i>hlyB</i>	$r = -0,46$; $p < 0,05$
<i>hlyD</i>	Высокая лихорадка	$r = 0,35$; $p < 0,05$
<i>hlyA</i>	Величина СОЭ	$r = 0,19$; $p = 0,035$
<i>hlyB</i>	Продолжительность боли	$r = 0,20$; $p = 0,026$
<i>eae</i>	Уровень лихорадки	$r = 0,10$; $p = 0,271$

[29]. Получены доказательства возможности горизонтально-го переноса генов антибиотикорезистентности между бактериями, в том числе во внешней среде [30].

Таким образом, можно предположить, что полученные нами результаты о частоте встречаемости ФГОП (*hlyA*, *hlyB*, *hlyD*, *cdtB*, *eae*, *ivy*) у клинических штаммов УПЭ при ОКИ у взрослых и установленные корреляционные взаимосвязи между ними и степенью тяжести, отдельными клиническими симптомами заболевания и лабораторными показателями, наряду с известными факторами вирулентности энтеробактерий, могут использоваться для оценки этиологической значимости выделенных культур.

Выводы

1. При ОКИ, ассоциированных с УПЭ, от пациентов выделяются *K. pneumoniae* (65%), *E. aerogenes* (22,8%), *Proteus spp.* (12,2%), отличающиеся наличием ряда генетических детерминант, ассоциируемых с патогенностью *E. coli* (39,84%).

2. Частота обнаружения ФГОП, определяющих продукцию гемолизина (*hlyA*, *hlyB*, *hlyD*), цитолетального токсина (*cdtB*), интимина (*eae*) и фактора персистенции (*ivy*) коррелирует с тяжестью течения заболевания ($r^* = 0,41$, $p < 0,001$).

3. Выявленные корреляционные взаимосвязи между частотой обнаружения ФГОП у клинических штаммов УПЭ и тяжестью течения, отдельными симптомами заболевания и лабораторными показателями могут свидетельствовать об этиологической значимости выделенных культур.

Литература

- Walker CL, Black RE. Diarrhoea morbidity and mortality in older children, adolescents, and adults. *Epidemiol Infect.* 2010;138:1215-26. DOI: 10.1017/S0950268810000592
- DuPont HL. Acute infectious diarrhea in immunocompetent adults. *N Engl J Med.* 2014;370:1532-40. DOI: 10.1056/NEJMr1301069
- Резник ВИ, Никифорова АВ, Лебедева ЛА, Перескокова МА, Забарная АА, Голубева ЕМ. Роль вирусных возбудителей при острых кишечных заболеваниях. Дальневосточный журнал инфекционной патологии. 2011;18:83-8.
- Мавзютов АР, Бондаренко ВМ, Жеребцова НЮ, Валишин ДА. Факторы патогенности оппортунистических энтеробактерий и их роль в развитии диареи. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии.* 2007;1:89-96.
- Малов ВА, Горобченко АН. Острые инфекционные диарейные заболевания. *Лечащий врач.* 2005;2:6-8.
- Шайхиева ГМ, Ефимов ГЕ, Кайданек ТВ, Шагиева ЗА. Эпидемиологическая характеристика вспышек острых кишечных инфекций на территории республики Башкортостан в 2007–2011 гг. *Бюллетень ВШНЦ СО РАМН.* 2014;1(95):94-101.
- Farthing M, Salam MA, Lindberg G, Dite P, Khalif I, Salazar-Lindo E, et al. Acute diarrhea in adults and children: a global perspective. *J Clin Gastroenterol.* 2013 Jan;47(1):12-20. DOI: 10.1097/MCG.0b013e31826df662
- Zhang Z, Lai S, Yu J, Geng Q, Yang W, Chen Y, et al. Etiology of acute diarrhea in the elderly in China: A six-year observational study. *PLoS One.* 2017 Mar 21;12(3):e0173881. DOI: 10.1371/journal.pone.0173881.
- Бондаренко ВМ. Генетические маркеры вирулентности условно патогенных бактерий. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии.* 2011;3:94-9.
- Carraro N, Durand R, Rivard N, Anquetil C, Barrette C, Humbert M, Burrus V. Salmonella genomic island 1 (SGI1) reshapes the mating apparatus of IncC conjugative plasmids to promote self-propagation. *PLoS Genet.* 2017 Mar 29;13(3):e1006705. DOI: 10.1371/journal.pgen.1006705
- Ruiz-Perez F, Nataro JP. Bacterial serine proteases secreted by the autotransporter pathway: classification, specificity, and role in virulence. *Cell Mol Life Sci.* 2014 Mar;71(5):745-70. DOI: 10.1007/s00018-013-1355-8.
- Мавзютов АР, Фиалкина СВ, Бондаренко ВМ. «Острова» патогенности условно-патогенных энтеробактерий. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии.* 2002;6:5-9.
- Мавзютов АР, Мурзабаева РТ, Назмутдинова РГ, Мирсяяпова ИА. Генетические маркеры патогенности *S. enteritidis*, антибиотикорезистентность культур и клинические особенности заболевания. *Клиническая лабораторная диагностика.* 2012;3:40-2.
- Жеребцова НЮ, Валишин ДА, Мавзютов АР. Провоспалительные цитокины при острых кишечных инфекциях, вызванных энтеробактериями у детей. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии.* 2007;3:48-52.
- Каротам ПА, Мазанкова ЛН, Боровик ТЭ, Баканов МИ. Значение белков острой фазы воспаления в патогенезе острых кишечных инфекций. *Детские инфекции.* 2005;4:24-8.
- Cavalieri SJ, Bochach GA, Snyder IS. *Escherichia coli* alpha-hemolysin: characteristics and probable role in pathogenicity. *Microbiol Rev.* 1984;48:326-43.
- Finlay BB, Falkow S. Common themes in microbial pathogenicity revisited. *Microbiol Mol Biol Rev.* 1997;61:137-69.
- Hacker J, Kaper J. Pathogenicity islands and the evolution of microbes. *Ann Rev Microbiol.* 2000;54:641-79.
- Struve C, Roe CC, Stegger M, Stahlhut SG, Hansen DS, Engelthaler DM, et al. Mapping the evolution of hypervirulent *Klebsiella pneumoniae*. *MBio.* 2015 Jul 21;6(4):e00630. DOI: 10.1128/mBio.00630-15
- Fleckenstein JM, Kopecko DJ. Breaching the mucosal barrier by stealth: an emerging pathogenic mechanism for enteroadherent bacterial pathogens. *J Clin Invest.* 2001;107(1):27-30.
- Monchois V, Abergel C, Sturgis J, Jeudy S, Claverie JM. *Escherichia coli* ykfE ORFan gene encodes a potent inhibitor of C-type lysozyme. *J Biol Chem.* 2001 May 25;276(21):18437-41. DOI: 10.1074/jbc.M010297200
- Simmons CP, Clare S, Dougan G. Understanding mucosal responsiveness: lessons from enteric bacterial pathogens. *Semin Immunol.* 2001;13(3):201-9. DOI: 10.1006/smim.2001.0313
- Белая ОФ, Гулазян ИМ, Юдина ЮВ, Пак СГ. Значение выявления маркеров токсинов возбудителей у больных ОКИ для диагностики и прогноза течения заболевания. *Инфекционные болезни: Современные проблемы диагностики и лечения: материалы Всероссийской конференции.* СПб., 2008.
- Bondarenko VM. Bacterial pathogenicity islands. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии.* 2001;4:67-74.
- Hinenoya A, Nagita A, Asakura M, Tsukamoto T, Ramamurthy T, Nair GB, et al. Cytolethal Distending Toxin (Cdt)-Producing *Escherichia coli* Isolated from a Child with Bloody Diarrhea in Japan. *Microbiol Immunol.* 2007;51(4):435-8.
- Fournout S, Dozois CM, Odin M, Desautels C, Pères S, Héroult F, et al. Lack of a role of cytotoxic necrotizing factor 1 toxin from *Escherichia coli* in bacterial pathogenicity and host cytokine response in infected germ-free piglets. *Infect Immun.* 2000 Feb;68(2):839-47.
- Ramboarina S, Fernandes PJ, Daniell S, Islam S, Simpson P, Frankel G, et al. Structure of the bundle-forming pili from enteropathogenic *Escherichia coli*. *J Biol Chem.* 2005 Dec 2;280(48):40252-60. DOI: 10.1074/jbc.M508099200
- Gyles C, Boerlin P. Horizontally transferred genetic elements and their role in pathogenesis of bacterial disease. *Vet Pathol.* 2014 Mar;51(2):328-40. DOI: 10.1177/0300985813511131
- Winste V., Liang C., Sanchez-Carballo P, Steglich M, Munar M, Bröker BM, et al. Wall teichoic acid structure governs horizontal gene transfer between major bacterial pathogens. *Nat Commun.* 2013;4:2345. DOI: 10.1038/ncomms3345

30. Wang Q, Mao D, Mu Q, Luo Y. Enhanced Horizontal Transfer of Antibiotic Resistance Genes in Freshwater Microcosms Induced by an Ionic Liquid. *PLoS One*. 2015 May 7;10(5):e0126784. DOI: 10.1371/journal.pone.0126784

References

1. Walker CL, Black RE. Diarrhoea morbidity and mortality in older children, adolescents, and adults. *Epidemiol Infect*. 2010;138:1215-26. DOI: 10.1017/S0950268810000592
2. DuPont HL. Acute infectious diarrhea in immunocompetent adults. *N Engl J Med*. 2014;370:1532-40. DOI: 10.1056/NEJMra1301069
3. Reznik VI, Nikiforova AV, Lebedeva LA, Pereskokova MA, Zabarnaya AA, Golubeva EM. The role of viral agents during the onsets of intestinal diseases. *Dal'nevostochnyi zhurnal infektsionnoi patologii*. 2011;18:83-8. (In Russian).
4. Mavzutov AR, Bondarenko VM, Zherebtsova NYu, Valishin DA. Pathogenicity factors of opportunistic enterobacteria and its role in development of diarrhea. *Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*. 2007;1:89-96. (In Russian).
5. Malov VA, Gorobchenko AN. Ostrye infektsionnye diareynye zabolevaniya. *Lechaschi Vrach Journal*. 2005;2:6-8. (In Russian).
6. Shaikhiyeva GM, Yefimov GE, Kaidanek TV, Shagiyeva ZA. Epidemiological characteristics of outbreaks of acute intestinal infections in Bashkortostan in 2007–2011. *Bulletin of the East Siberian Scientific Center SBRAMS*. 2014;1(95):94-101. (In Russian).
7. Farthing M, Salam MA, Lindberg G, Dite P, Khalif I, Salazar-Lindo E, et al. Acute diarrhea in adults and children: a global perspective. *J Clin Gastroenterol*. 2013 Jan;47(1):12-20. DOI: 10.1097/MCG.0b013e31826df662
8. Zhang Z, Lai S, Yu J, Geng Q, Yang W, Chen Y, et al. Etiology of acute diarrhea in the elderly in China: A six-year observational study. *PLoS One*. 2017 Mar 21;12(3):e0173881. DOI: 10.1371/journal.pone.0173881.
9. Bondarenko VM. Genetic virulence markers of opportunistic bacteria. *Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*. 2011;3:94-9. (In Russian).
10. Carraro N, Durand R, Rivard N, Anquetil C, Barrette C, Humbert M, Burrus V. Salmonella genomic island 1 (SGI1) reshapes the mating apparatus of IncC conjugative plasmids to promote self-propagation. *PLoS Genet*. 2017 Mar 29;13(3):e1006705. DOI: 10.1371/journal.pgen.1006705
11. Ruiz-Perez F, Nataro JP. Bacterial serine proteases secreted by the autotransporter pathway: classification, specificity, and role in virulence. *Cell Mol Life Sci*. 2014 Mar;71(5):745-70. DOI: 10.1007/s00018-013-1355-8.
12. Mavzyutov AR, Fialkina SV, Bondarenko VM. Pathogenicity islands in opportunistic enterobacteria. *Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*. 2002;6:5-9. (In Russian).
13. Mavzyutov AR, Murzabayeva RT, Nazmutdinova RG, Mirsayapova IA. The genetic markers of pathogenicity of *S. enteritidis*, antibiotic resistance of cultures and clinical characteristics of disease. *Russian Clinical Laboratory Diagnostics*. 2012;3:40-2. (In Russian).
14. Zerebtsova NYu, Valishin DA, Mavzutov AR. Proinflammatory cytokines in children with acute enteric infections caused by enterobacteria. *Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*. 2007;3:48-52. (In Russian).
15. Karotam PA, Mazankova LN, Borovik TE, Bakanov MI. Znachenie belkov ostroi fazy vospaleniya v patogeneze ostrykh kishhechnykh infektsii. *Children Infections*. 2005;4:24-8. (In Russian).
16. Cavalieri SJ, Bochach GA, Snyder IS. *Escherichia coli* alpha-hemolysin: characteristics and probable role in pathogenicity. *Microbiol Rev*. 1984;48:326-43.
17. Finlay BB, Falkow S. Common themes in microbial pathogenicity revisited. *Microbiol Mol Biol Rev*. 1997;61:137-69.
18. Hacker J, Kaper J. Pathogenicity islands and the evolution of microbes. *Ann Rev Microbiol*. 2000;54:641-79.

19. Struve C, Roe CC, Stegger M, Stahlhut SG, Hansen DS, Engelthaler DM, et al. Mapping the evolution of hypervirulent *Klebsiella pneumoniae*. *MBio*. 2015 Jul 21; 6(4):e00630. DOI: 10.1128/mBio.00630-15
20. Fleckenstein JM, Kopecko DJ. Breaching the mucosal barrier by stealth: an emerging pathogenic mechanism for enteroadherent bacterial pathogens. *J Clin Invest*. 2001;107(1):27-30.
21. Monchois V, Abergel C, Sturgis J, Jeudy S, Claverie JM. *Escherichia coli* ykfE ORFan gene encodes a potent inhibitor of C-type lysozyme. *J Biol Chem*. 2001 May 25;276(21):18437-41. DOI: 10.1074/jbc.M010297200
22. Simmons CP, Clare S, Dougan G. Understanding mucosal responsiveness: lessons from enteric bacterial pathogens. *Semin Immunol*. 2001;13(3):201-9. DOI: 10.1006/smim.2001.0313
23. The importance of identifying markers of toxins of pathogens in patients with OKI for the diagnosis and prognosis of the disease. *Infectious diseases: Modern problems of diagnostics and treatment: proceedings of all-Russian conference*. St.Petersburg, 2008. (In Russian).
24. Bondarenko VM. Bacterial pathogenicity islands. *Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*. 2001;4:67-74. (In Russian).
25. Hinenoya A, Nagita A, Asakura M, Tsukamoto T, Ramamurthy T, Nair GB, et al. Cytotoxic Distending Toxin (Cdt)-Producing *Escherichia coli* Isolated from a Child with Bloody Diarrhea in Japan. *Microbiol Immunol*. 2007;51(4):435-8.
26. Fournout S, Dozois CM, Odin M, Desautels C, Pères S, Héroult F, et al. Lack of a role of cytotoxic necrotizing factor 1 toxin from *Escherichia coli* in bacterial pathogenicity and host cytokine response in infected germ-free piglets. *Infect Immun*. 2000 Feb;68(2):839-47.
27. Ramboarina S, Fernandes PJ, Daniell S, Islam S, Simpson P, Frankel G, et al. Structure of the bundle-forming pilus from enteropathogenic *Escherichia coli*. *J Biol Chem*. 2005 Dec 2;280(48):40252-60. DOI: 10.1074/jbc.M508099200
28. Gyles C, Boerlin P. Horizontally transferred genetic elements and their role in pathogenesis of bacterial disease. *Vet Pathol*. 2014 Mar;51(2):328-40. DOI: 10.1177/0300985813511131
29. Winste V., Liang C., Sanchez-Carballo P, Steglich M, Munar M, Bröker BM, et al. Wall teichoic acid structure governs horizontal gene transfer between major bacterial pathogens. *Nat Commun*. 2013;4:2345. DOI: 10.1038/ncomms3345
30. Wang Q, Mao D, Mu Q, Luo Y. Enhanced Horizontal Transfer of Antibiotic Resistance Genes in Freshwater Microcosms Induced by an Ionic Liquid. *PLoS One*. 2015 May 7;10(5):e0126784. DOI: 10.1371/journal.pone.0126784

Информация о авторах:

Мурзабаева Расима Тимерьяровна, доктор медицинских наук, профессор кафедры инфекционных болезней ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет»
 Адрес: 450105, Уфа, ул. Запотоцкого, 37
 Телефон: (347) 250-18-83
 E-mail: rmurzabaeva@yandex.ru

Дубровская Дина Наилевна, заочный аспирант кафедры инфекционных болезней ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет»
 Адрес: 450105, Уфа, ул. Запотоцкого, 37
 Телефон: (347) 250-1870
 E-mail: dina_8383@mail.ru

Information about authors:

Rasima T. Murzabaeva, MD, PhD, DSc, professor, department of infectious diseases, Bashkir State Medical University
 Address: 37 Zapototskogo str., Ufa, 450105, Russian Federation
 Phone: (347) 250-1883
 E-mail: rmurzabaeva@yandex.ru

Dina N. Dubrovskaya, extramural post-graduate student, department of infectious diseases, Bashkir State Medical University
 Address: 37 Zapototskogo str., Ufa, 450105, Russian Federation
 Phone: (347) 250-1870
 E-mail: dina_8383@mail.ru