

ОСОБЕННОСТИ ШТАММОВ *ESCHERICHIA COLI*, ВЫДЕЛЕННЫХ ПРИ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ ЧЕЛОВЕКА

ГОДОВАЛОВ АНАТОЛИЙ ПЕТРОВИЧ, ORCID ID: 0000-0002-5112-2003; SCOPUS Author ID: 57204065570; канд. мед. наук, ведущий научный сотрудник Центральной научно-исследовательской лаборатории, доцент кафедры микробиологии и вирусологии ФГБОУ ВО «Пермский государственный медицинский университет им. академика Е.А. Вагнера» Минздрава России, Россия, 614990, Пермь, ул. Петропавловская, 26, тел. +7(342)236-44-85, e-mail: AGodovalov@gmail.com

ОЖГИБЕСОВ ГЕОРГИЙ ПЕТРОВИЧ, зав. бактериологической лабораторией Центра государственного санитарно-эпидемиологического надзора ФКУЗ «Медико-санитарная часть МВД России по Пермскому краю», Россия, 614990, Пермь, ул. Пермская, 128, тел. +7(342)264-22-55

НИКУЛИНА ЕЛЕНА АЛЕКСАНДРОВНА, врач-бактериолог бактериологической лаборатории Центра государственного санитарно-эпидемиологического надзора ФКУЗ «Медико-санитарная часть МВД России по Пермскому краю», Россия, 614990, Пермь, ул. Пермская, 128, тел. +7(342)264-22-55

Реферат. В настоящее время наблюдается рост числа случаев инфекционно-воспалительных заболеваний, обусловленных условно-патогенными микроорганизмами, среди которых одно из ведущих мест принадлежит *Escherichia coli*. Относительно мало внимания уделяется изучению отдельных свойств *E. coli*, а также роли таких нетипичных вариантов в развитии заболеваний человека. **Цель исследования** – оценить встречаемость *E. coli* при воспалительных заболеваниях урогенитального тракта и дыхательных путей, а также оценить свойства выделенных штаммов. **Материал и методы.** За период 2016–2018 гг. проведено микробиологическое исследование проб мочи, отделяемого цервикального канала, верхних дыхательных путей, мокроты пациентов с воспалительными заболеваниями и выделяемого из кишечника. У выделенных штаммов *E. coli* оценивали способность к движению, ферментацию лактозы, утилизацию цитрата как единственного источника углерода, а также уреазную и гемолитическую активность. Для статистического анализа данных использовали критерий χ^2 . Статистически значимыми считали различия при $p < 0,05$. **Результаты и их обсуждение.** В настоящем исследовании показано, что нетипичные варианты *E. coli* встречаются при воспалительных заболеваниях мочеполовой системы и внебольничных пневмониях более чем в трети случаев выделения *E. coli*. Зачастую регистрируется колонизация лактозонегативными, гемолитическими и неподвижными вариантами *E. coli*. Подобная ситуация может быть обусловлена тем фактом, что геном *E. coli* характеризуется высокой пластичностью, которая обеспечивает адаптацию и «фитнес» штаммов. Можно предположить, что утрата некоторых свойств может быть как раз необходима для успешной колонизации несвойственного биотопа. С другой стороны, урогенитальный тракт и дыхательные пути могут колонизировать только те штаммы *E. coli*, которые способны успешно перестраивать свой метаболизм, например, снижая подвижность и утилизацию лактозы, но сохраняя способность к синтезу гемолизина. **Выводы.** Таким образом, при проведении микробиологических исследований следует учитывать нетипичные проявления свойств *E. coli*, поскольку такие данные могут быть дополнительными факторами, увеличивающими вирулентность штаммов, обеспечивая им более успешную колонизацию несвойственных биотопов.

Ключевые слова: *Escherichia coli*, ферментация лактозы, подвижность, гемолитическая активность, нетипичный вариант, воспаление.

Для ссылки: Годовалов, А.П. Особенности штаммов *Escherichia coli*, выделенных при воспалительных заболеваниях человека / А.П. Годовалов, Г.П. Ожгибесов, Е.А. Никулина // Вестник современной клинической медицины. – 2019. – Т. 12, вып. 4. – С.7–10. DOI: 10.20969/VSKM.2019.12(4).7-10.

THE PROPERTIES OF *ESCHERICHIA COLI* STRAINS ISOLATED IN HUMAN INFLAMMATORY DISEASES

GODOVALOV ANATOLIY P., ORCID ID: 0000-0002-5112-2003; SCOPUS Author ID: 57204065570; C. Med. Sci., leading researcher of the Central research laboratory, associate professor of the Department of microbiology and virology of Perm State Medical University named after acad. E.A. Wagner, Russia, 614990, Perm, Petropavlovskaya str., 26, tel. +7(342)236-44-85, e-mail: AGodovalov@gmail.com

OZHIGIBESOV GEORGIY P., the Head of Bacteriological laboratory of Center for State Sanitary and Epidemiological Surveillance of Medical Unit of the Ministry of Internal Affairs of Russia in the Perm region, Russia, 614990, Perm, Permskaya str., 128, tel. +7(342)264-22-55.

NIKULINA ELENA A., bacteriologist of Bacteriological laboratory of the Center for State Sanitary and Epidemiological Surveillance of Medical Unit of the Ministry of Internal Affairs of Russia in the Perm region, Russia, 614990, Perm, Permskaya str., 128, tel. +7(342)264-22-55

Abstract. Currently, we can see an increase in the incidence of infectious and inflammatory diseases caused by opportunistic pathogenic microorganisms. One of the leading positions among them belongs to *Escherichia coli*. Relatively little attention is paid to the study of individual properties of *E. coli*, as well as to the role of such atypical

species in human disease development. **Aim.** The aim of the study was to assess the presence of *E. coli* in urogenital and respiratory tract inflammatory diseases, as well as the properties of the isolated strains. **Material and methods.** Microbiological study of urine, cervical discharge, upper respiratory tract, sputum of patients with inflammatory diseases, and intestinal discharge samples was carried out during the period of 2016–2018. The ability to move, lactose fermentation, citrate utilization as the sole carbon source, as well as urease and hemolytic activity was evaluated in the isolated *E. coli* strains. χ^2 test was used for statistical data analysis. Differences were considered statistically significant at $p < 0,05$. **Results and discussion.** Current study has shown that atypical *E. coli* strains are present in urogenital inflammatory diseases and in community-acquired pneumonia in more than a third of cases of *E. coli* recovery. The most common recorded colonies are represented by lactose-negative, hemolytic and immobile *E. coli* strains. Such findings may be related to the fact that the *E. coli* genome is characterized by high plasticity, which provides adaptation and «fitness» for the strains. It can be assumed that the loss of certain properties may be just necessary for successful unusual biotope colonization. On the other hand, urogenital and respiratory tract can be colonized only by those *E. coli* strains that are able to successfully rebuild their metabolism, for example, by reducing mobility and lactose utilization, but by retaining the ability to synthesize hemolysins. **Conclusion.** Thus, when conducting microbiological studies, it is necessary to take into account the atypical manifestations of *E. coli* properties, since such data may indicate additional factors that increase the virulence in the strains, allowing them more successful unusual biotope colonization.

Key words: *Escherichia coli*, lactose fermentation, motility, hemolytic activity, atypical strain, inflammation.

For reference: Godovalov AP, Ozhgibesov GP, Nikulina EA. The properties of *Escherichia coli* strains isolated in human inflammatory diseases. The Bulletin of Contemporary Clinical Medicine. 2019; 12 (4): 7-10. DOI: 10.20969/VSKM.2019.12(4).7-10.

Один из типичных представителей условно-патогенной микрофлоры – *Escherichia coli* – характеризуется широким спектром ферментативной активности, способностью к движению, высокой биопленкообразующей активностью, участием в горизонтальном переносе генетической информации. Установлено, что благодаря своим уникальным свойствам *E. coli* может успешно колонизировать все ткани и органы человека. При этом клиническая картина варьирует от полного отсутствия симптомов до тяжелых летальных заболеваний [1, 2]. Хорошо описаны случаи бактериемии, обусловленной *E. coli* [3]. С другой стороны, среди грамотрицательных микроорганизмов именно *E. coli* принадлежит ведущее место в списке этиологических агентов воспалительных заболеваний мочевых путей [4] и женского генитального тракта [5]. Более того, в настоящее время наблюдается неуклонный рост заболеваемости, обусловленной условно-патогенной микрофлорой и, в частности, *E. coli*.

Не менее важной составляющей патогенеза воспалительных заболеваний является участие *E. coli* в формировании сложно регулируемых ассоциаций микроорганизмов. В таких консорциумах симбиотная микрофлора биотопа выполняет зачастую ключевую роль [6, 7].

Достаточно детально описан спектр факторов патогенности *E. coli*: адгезины, токсины, железосвязывающие системы, полисахарид и инвазины. Показаны различия экспрессии этих факторов в зависимости от вирулентности штаммов [8]. В свою очередь, некоторым свойствам *E. coli* уделяется относительно мало внимания. Так, например, ферментативная активность учитывается только при ряде кишечных заболеваний, когда показана роль лактозонегативных штаммов *E. coli* в развитии диарейного синдрома. В ряде случаев проводят учет гемолитической активности. Однако практически отсутствуют сведения о вариантах *E. coli*, утративших способность к движению или продукции индола, а также о совокупном

изменении фенотипических признаков. В исследованиях [4, 9] описано, что фенотип вариантов *E. coli*, обуславливающих развитие внекишечных воспалительных заболеваний, не соответствует генотипу микроорганизма. Высказывается предположение, что вирулентность *E. coli* ассоциирована исключительно с мобильной частью генома, когда привнесение генов может как увеличивать проявление какой-либо способности, так и снижать ее активность, обуславливая тем самым генетическую адаптацию микроорганизма к другой нише обитания.

Цель исследования – оценить встречаемость *E. coli* при воспалительных заболеваниях урогенитального тракта и дыхательных путей, а также оценить свойства выделенных штаммов.

Материал и методы. За период 2016–2018 гг. проведено микробиологическое исследование 514 проб мочи пациентов с хроническим пиелонефритом, 535 проб отделяемого цервикального канала женщин с хроническим цервицитом и вагинитом, 502 пробы отделяемого верхних дыхательных путей пациентов с воспалительными процессами носа и зева, 276 проб мокроты пациентов с внебольничной пневмонией и 324 пробы отделяемого кишечника.

Выделение *E. coli* осуществляли на агаре Эндо, изучали тинкториальные и культуральные свойства штаммов. Оценивали способность штаммов *E. coli* к движению путем посева в 0,3% полужидкий агар, ферментацию лактозы – на средах Гиса, утилизацию цитрата как единственного источника углерода – на среде Симмонса, уреазную активность – на среде по Преусу. Для выявления гемолитической активности *E. coli* использовали кровяной агар.

Для статистического анализа данных использовали критерий χ^2 . Статистически значимыми считали различия при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение. При анализе проб мочи от пациентов с хроническим пиелонефритом *E. coli* обнаружены в 21,6% случаев, причем в 76% из них были выделены типичные варианты,

характеризующиеся способностью к движению и разложению лактозы, обладающие уреазой и не способные к утилизации цитрата, а также не проявляющие гемолитической активности. Среди нетипичных штаммов более чем в половине случаев (58,6%) преобладали те, которые утратили подвижность. Реже встречались гемолитические (20,7%) и лактозонегативные штаммы (17%). В трети случаев гемолитические варианты *E. coli* были не способны к ферментации лактозы. За три анализируемых года частота встречаемости *E. coli* в пробах мочи составила в 2016 г. 17,2%; в 2017 г. – 17,8%; в 2018 г. – 28,9%. Обнаружение нетипичных вариантов по годам существенно не менялось – (25,4±3,1)%.

В пробах отделяемого цервикального канала женщин с хроническими неспецифическими цервицитами и вагинитами *E. coli* обнаружены в 12,3% случаев, что существенно меньше, чем при исследовании проб мочи ($\chi^2=16,02$; $p<0,05$). Однако в цервикальном канале нетипичные варианты *E. coli* обнаруживались значимо чаще (60,6% штаммов), чем в пробах мочи ($\chi^2=20,6$; $p<0,05$). Среди нетипичных вариантов часто встречались гемолитические (60%) и лактозонегативные (50%). При анализе встречаемости типичных и нетипичных вариантов *E. coli* существенных отличий по годам не выявлено.

В отделяемом дыхательных путей при воспалительных заболеваниях *E. coli* встречаются относительно редко. Так, в верхних дыхательных путях *E. coli* обнаружены в 0,6% случаев, при этом все они были типичными вариантами. В пробах мокроты пациентов с внебольничной пневмонией *E. coli* содержали 3,3% проб, среди которых в 67% выделены нетипичные варианты. Более половины таких нетипичных штаммов одновременно не ферментировали лактозу и не обладали подвижностью (60%). Гемолитические штаммы составили 17% проб, содержащих нетипичные варианты *E. coli*.

При исследовании отделяемого кишечника типичные варианты *E. coli* обнаружены в 71,9% случаев. Среди нетипичных штаммов встречались неподвижные (44%), гемолитические (28,6%) и лактозонегативные (27,4%) варианты.

Все изученные штаммы *E. coli* не обладали уреазной активностью и были не способны утилизировать цитрат как единственный источник углерода.

В целом в настоящем исследовании показано, что нетипичные варианты *E. coli* встречаются при воспалительных заболеваниях мочеполовой системы и внебольничных пневмониях более чем в трети случаев выделения *E. coli*. Подобная ситуация может быть обусловлена тем фактом, что геном *E. coli* характеризуется высокой пластичностью. Показано наличие в его составе консервативной («core») и варибельной частей. Генетический материал именно этой варибельной части генома *E. coli* обеспечивает адаптацию и «фитнесс» штаммов [4] и включает мобильные генетические элементы – фаги, плазмиды, инсерционные последовательности, транспозоны и

интегроны [10]. В связи с этим можно предположить, что утрата некоторых свойств может быть как раз необходима для успешной колонизации несвойственного биотопа.

В исследованиях [11, 12] описана гипотеза, что в кишечнике здоровых людей присутствуют ExPEC-подобные штаммы *E. coli*, ряд генов которых (в частности, гены, кодирующие адгезины, сидерофоры, капсульные элементы и продукцию токсинов) задействованы в колонизации кишечного тракта непатогенными вариантами, т.е. можно говорить о функционировании совокупного генома микроорганизмов биотопа. Это, в свою очередь, предполагает, что при определенных условиях деятельность такого «генетического консорциума» может быть изменена, что приведет к транслокации отдельных штаммов *E. coli* в смежные органы и ткани, а также к изменению функционирования микробиоты в целом, что может быть ключевым звеном патогенеза хронизации воспалительного процесса.

Факт потери подвижности штаммами, вовлеченными в развитие воспалительного процесса, выглядит неожиданным, поскольку в экспериментальных исследованиях [13] показано, что при утере или параличе жгутиков *E. coli* блокируется начальный этап биопленкообразования, необходимый для успешной колонизации поверхности. Снижение подвижности, как правило, обусловлено уменьшением уровня транскрипции генов флагеллина и, соответственно, его синтеза [14]. Можно предположить, что при этом увеличивается транскрипционный уровень других белков, например токсинов, оказывающих повреждающее действие на ткани человека, что более важно для *E. coli* при колонизации биотопа.

В исследованиях [15] показана тесная связь дыхательной цепи мембраны и переноса молекул лактозы, поскольку один из элементов этой цепи является в то же время и переносчиком молекул лактозы. Подобный факт позволяет предположить, что при увеличении потребности в энергии, наблюдаемой при колонизации новой ниши, перенос молекул лактозы может снижаться.

Обобщая накопленные данные, можно предположить, что урогенитальный тракт и дыхательные пути могут колонизировать те штаммы *E. coli*, которые имеют ряд генов, возможно полученных при горизонтальном переносе, и успешно перестраивают свой метаболизм, например, снижая подвижность и утилизацию лактозы, но сохраняя способность к синтезу гемолизина.

Вывод. Таким образом, при проведении микробиологических исследований следует учитывать нетипичные проявления свойств *E. coli*, поскольку такие данные могут быть дополнительными факторами, увеличивающими вирулентность штаммов, обеспечивая им более успешную колонизацию несвойственных биотопов.

Прозрачность исследования. Исследование не имело спонсорской поддержки. Авторы несут полную ответственность за предоставление окончательной версии рукописи в печать.

Декларация о финансовых и других взаимоотношениях. Все авторы принимали участие в разработке концепции, дизайна исследования и в написании рукописи. Окончательная версия рукописи была одобрена всеми авторами. Авторы не получали гонорар за исследование.

ЛИТЕРАТУРА

1. Pathogenic and non-pathogenic *Escherichia coli* colonization and host inflammatory response in a defined microbiota mouse model / Z.R. Stromberg, A. Van Goor, G.A.J. Redweik [et al.] // *Dis. Model. Mech.* – 2018. – Vol. 11 (11). – P.dmm035063.
2. *Escherichia coli* early-onset sepsis: trends over two decades / N. Mendoza-Palomar, M. Balasch-Carulla, S. González-Di Lauro [et al.] // *Eur. J. Pediatr.* – 2017. – Vol. 176 (9). – P.1227–1234.
3. Oppenheim, B. *Escherichia coli* bacteraemia papers / B. Oppenheim // *J. Hosp. Infect.* – 2017. – Vol. 95 (4). – P.363–364.
4. *Escherichia coli*: an old friend with new tidings / J. Vila, E. Sáez-López, J.R. Johnson [et al.] // *FEMS Microbiol. Rev.* – 2016. – Vol. 40 (4). – P.437–463.
5. Prevalence of *Escherichia coli* among samples collected from the genital tract in pregnant and non-pregnant women: relationship with virulence / E. Guiral, J. Bosch, J. Vila, S.M. Soto // *FEMS Microbiol. Lett.* – 2011. – Vol. 314. – P.170–173.
6. Годовалов, А.П. Особенности межмикробных отношений в микробиоте влагалища инфертильных женщин / А.П. Годовалов, М.О. Гущин, Т.И. Карпунина // *Медицинский вестник Северного Кавказа.* – 2019. – Т. 14, № 11. – С.40–44.
7. Годовалов, А.П. Сравнительный анализ результатов молекулярно-генетического и культурального исследования эякулята / А.П. Годовалов, Т.И. Карпунина, Ю.В. Ракитина // *Проблемы медицинской микологии.* – 2019. – Т. 21, № 2. – С.57–58.
8. Virulence factor profiles and phylogenetic background of *Escherichia coli* isolates from veterans with bacteremia and uninfected control subjects / M.R. Sannes, M.A. Kuskowski, K. Owens [et al.] // *J. Infect. Dis.* – 2004. – Vol. 190. – P.2121–2128.
9. The population genetics of commensal *Escherichia coli* / O. Tenaillon, D. Skurnik, B. Picard, E. Denamur // *Nature Rev. Microbiol.* – 2010. – Vol. 8. – P.207–217.
10. Toussaint, A. Prokaryote genome fluidity: toward a system approach of the mobilome / A. Toussaint, M. Chandler // *Methods Mol. Biol.* – 2012. – Vol. 804. – P.57–80.
11. Nowrouzian, F. P fimbriae, capsule and aerobactin characterize colonic resident *Escherichia coli* / F. Nowrouzian, I. Adlerberth, A.E. Wold // *Epidemiol. Infect.* – 2001. – Vol. 126. – P.11–18.
12. Dale, A.P. Extra-intestinal pathogenic *Escherichia coli* (ExPEC): Disease, carriage and clones / A.P. Dale, N. Woodford // *J. Infect.* – 2015. – Vol. 71 (6). – P.615–626.
13. Pratt, L.A. Genetic analysis of *Escherichia coli* biofilm formation: roles of flagella, motility, chemotaxis and type I pili / L.A. Pratt, R. Kolter // *Mol. Microbiol.* – 1998. – Vol. 30 (2). – P.285–293.
14. The high-pathogenicity island (HPI) promotes flagellum-mediated motility in extraintestinal pathogenic *Escherichia coli* / G. Magistro, C. Magistro, C.G. Stief, S. Schubert // *PLoS One.* – 2017. – Vol. 12 (10). – P.e0183950.
15. Ghazi, A. Comparison of lactose uptake in resting and energized *Escherichia coli* cells: high rates of respiration

inactivate the lac carrier / A. Ghazi, H. Therisod, E. Shechter // *J. Bacteriol.* – 1983. – Vol. 154 (1). – P.92–103.

REFERENCES

1. Stromberg ZR, Van Goor A, Redweik GAJ, Wymore Brand MJ, Wannemuehler MJ, Mellata M. Pathogenic and non-pathogenic *Escherichia coli* colonization and host inflammatory response in a defined microbiota mouse model. *Dis Model Mech.* 2018; 11 (11): dmm035063.
2. Mendoza-Palomar N, Balasch-Carulla M, González-Di Lauro S, Céspedes MC, Andreu A, Frick MA, Linde MÁ, Soler-Palacin P. *Escherichia coli* early-onset sepsis: trends over two decades. *Eur J Pediatr.* 2017; 176 (9): 1227–1234.
3. Oppenheim B. *Escherichia coli* bacteraemia papers. *J Hosp Infect.* 2017; 95 (4): 363–364.
4. Vila J, Sáez-López E, Johnson JR, Römmling U, Dobrindt U, Cantón R, Giske CG, Naas T, Carattoli A, Martínez-Medina M, Bosch J, Retamar P, Rodríguez-Baño J, Baquero F, Soto SM. *Escherichia coli*: an old friend with new tidings. *FEMS Microbiol Rev.* 2016; 40 (4): 437–463.
5. Guiral E, Bosch J, Vila J, Soto SM. Prevalence of *Escherichia coli* among samples collected from the genital tract in pregnant and non-pregnant women: relationship with virulence. *FEMS Microbiol Lett.* 2011; 314: 170–173.
6. Godovalov AP, Gushhin MO, Karpunina TI. Osobennosti mezhmikrobnih odnoshenij v mikrobiote vlagalishha infertil'nyh zhenshin [Features of intermicrobial relations in the microbiota of the vagina at infertile women]. *Medicinskij vestnik Severnogo Kavkaza* [Medical Bulletin of the North Caucasus]. 2019; 14 (1.1): 40–44.
7. Godovalov AP, Karpunina TI, Rakitina JuV. Sravnitel'nyj analiz rezul'tatov molekulyarno-geneticheskogo i kul'tural'nogo issledovanija jejakuljata [Comparative analysis of the results of molecular-genetic and cultural studies of ejaculate]. *Problemy medicinskoj mikologii* [Medical Mycology Problems]. 2019; 21 (2): 57–58.
8. Sannes MR, Kuskowski MA, Owens K, et al. Virulence factor profiles and phylogenetic background of *Escherichia coli* isolates from veterans with bacteremia and uninfected control subjects. *J Infect Dis.* 2004; 190: 2121–2128.
9. Tenaillon O, Skurnik D, Picard B, Denamur E. The population genetics of commensal *Escherichia coli*. *Nature Rev Microbiol.* 2010; 8: 207–217.
10. Toussaint A, Chandler M. Prokaryote genome fluidity: toward a system approach of the mobilome. *Methods Mol Biol.* 2012; 804: 57–80.
11. Nowrouzian F, Adlerberth I, Wold AE. P fimbriae, capsule and aerobactin characterize colonic resident *Escherichia coli*. *Epidemiol Infect.* 2001; 126: 11–18.
12. Dale AP, Woodford N. Extra-intestinal pathogenic *Escherichia coli* (ExPEC): Disease, carriage and clones. *J Infect.* 2015; 71 (6): 615–626.
13. Pratt LA, Kolter R. Genetic analysis of *Escherichia coli* biofilm formation: roles of flagella, motility, chemotaxis and type I pili. *Mol Microbiol.* 1998; 30 (2): 285–293.
14. Magistro G, Magistro C, Stief CG, Schubert S. The high-pathogenicity island (HPI) promotes flagellum-mediated motility in extraintestinal pathogenic *Escherichia coli*. *PLoS One.* 2017; 12 (10): e0183950.
15. Ghazi A, Therisod H, Shechter E. Comparison of lactose uptake in resting and energized *Escherichia coli* cells: high rates of respiration inactivate the lac carrier. *J Bacteriol.* 1983; 154 (1): 92–103.