

STRAIN E. COLI ONT:H30 18-726

**БИОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ЭНТЕРОАГГРЕГАТИВНОГО ШТАММА ESCHERICHIA COLI ONT:H30 18-726 (№ В-8857), ВЫДЕЛЕННОГО ОТ ПАЦИЕНТА С ЯЗВЕННЫМ КОЛИТОМ, И НОВЫЙ СПОСОБ ПЦР-ИДЕНТИФИКАЦИИ**

М.А. Макарова<sup>1,2</sup>,

Е.Е. Круглов<sup>3</sup>,

Л.А.Кафтырева<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, г. Санкт-Петербург, Россия

<sup>2</sup> ФГБОУ ВО Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова, г. Санкт-Петербург, Россия

<sup>3</sup>ФГБОУ ВО Самарский государственный медицинский университет Минздрава России, г. Самара, Россия

**BIOLOGICAL CHARACTERISTICS OF THE ENTEROAGGREGATIVE ESCHERICHIA COLI ONT:H30 18-726 (No. B-8857) STRAIN ISOLATED FROM A PATIENT WITH ULCERATIVE COLITIS AND A NEW METHOD OF PCR IDENTIFICATION**

M.A. Makarova<sup>a</sup>

E.E. Kruglov<sup>b</sup>

L.A. Kaftyreva<sup>c</sup>

<sup>a</sup>St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russia

<sup>b</sup>Samara State Medical University, Samara, Russia

STRAIN *E. COLI* ONT:H30 18-726

**Резюме.** Цель работы – изучить биологические свойства энтероаггративного штамма *Escherichia coli* выделенного из биопсийного материала слизистой оболочки толстой кишки пациента с язвенным колитом, а также разработать новый способ ПЦР-идентификации штаммов *E. coli*.

**Методы:** В исследовании приняли участие 46 пациентов с верифицированным диагнозом «язвенный колит». Выделение 87 штаммов *Escherichia coli* осуществлялось из биопсийного материала толстой кишки, полученного в ходе стандартной эндоскопической процедуры. Описание биохимических свойств бактерий сочеталось с молекулярно-генетическим определением детерминант вирулентности и наличием механизмов антибиотикорезистентности.

С использованием набора реагентов «АмплиСенс®Эшерихиозы – FL» был проведен скрининг на наличие диареогенных штаммов *E. coli*, который выявил наличие одного энтероаггративного штамма *E. coli* (EAgEC).

Методический подход по созданию нового способа идентификации штамма базировался на поиске уникальной генетической последовательности в гене глутаматдекарбоксилазы (*gad*).

**Результаты:** Штамм *E. coli* 18-726 по биохимическим признакам можно описать как типичный для своего вида. Изученный штамм характеризовался фенотипом множественной резистентности (MDR) к антибактериальным химиопрепаратам, а также отсутствием чувствительности к пяти препаратам бактериофагов.

Штамм *E. coli* 18-726 имел уникальную последовательность гена, кодирующего O-антиген, которая отличалась от 188 известных O-антигенов (ONT) и по идентичности нуклеотидной

STRAIN *E. COLI* ONT:H30 18-726

последовательности гена, кодирующего синтез H-антигена штамм, принадлежал к серовару H30. Таким образом, антигенная формула штамма EAgEC 18-726 выражалась как ONT:H30.

Штамм *E. coli* 18-726 содержал значительный спектр генов, реализующих свойства вирулентности (*iss*, *capU*, *aggA*, *aggB*, *aggC*, *aggD*, *aap*, *aar*) и резистентности к антибактериальным препаратам (*blaCTX-M-15*, *blaTEM-1B*, *aadA1*, *aadA5*, *mph(A)*, *catB3*).

Новый способ идентификации энтероаггегативных *E. coli* при хронических заболеваниях кишечника базируется на методе полимеразной цепной реакции с применением праймеров для специфического участка гена глутаматдекарбоксилазы (*gad*).

**Заключение:**

1. Проанализированы биохимические, антигенные и молекулярно-генетические свойства штамма *Escherichia coli* ONT:H30 18-726 (№ В-8857) выделенного от пациента с гистоморфологически установленным диагнозом «язвенный колит».

2. Создан и запатентован способ по ПЦР-идентификации энтероаггегативных штаммов *Escherichia coli* основанный на выявлении специфического участка гена глутаматдекарбоксилазы в геноме штаммов.

**Ключевые слова:** *Escherichia coli*, EAgEC, язвенный колит, ПЦР, вирулентность, антибиотикорезистентность.

**Abstract.** The aim of the work is to assess biological properties of the enteroaggregative *Escherichia coli* strain isolated from the colon mucosa biopsy

## STRAIN E. COLI ONT:H30 18-726

material from a patient with ulcerative colitis, and to develop a new method for PCR identification of *E. coli* strains.

**Methods:** The study involved 46 patients with a verified ulcerative colitis. Isolation of 87 *Escherichia coli* strains was carried out by using colon biopsy material obtained during a standard endoscopic procedure. The description of the biochemical bacterial properties was combined with the molecular genetic detection of virulence determinants and presence of antibiotic resistance mechanisms.

Using the AmpliSense® *Escherichiose - FL* reagent kit, a screening for the presence of diarrheagenic *E. coli* strains was performed, which revealed the presence of a single enteroaggregative strain of *E. coli* (EA<sub>g</sub>EC).

The methodological approach to creating a new method for strain identification was based on the search for a unique genetic sequence within the glutamate decarboxylase (*gad*) gene.

**Results:** *E. coli* 18-726 can be described biochemically typical to its species. The studied strain was characterized by a multiple resistance phenotype (MDR) to antibacterial chemotherapy drugs, as well as a lack of sensitivity to five bacteriophage preparations.

The *E. coli* 18-726 strain had a unique sequence of the gene encoding the O-antigen, which differed from 188 known O-antigens (ONT) and, by the identity of the nucleotide sequence of the gene encoding the synthesis of the H-antigen, the strain belonged to the H30 serovar. Thus, the antigenic formula of strain EA<sub>g</sub>EC 18-726 was expressed as ONT:H30.

The *E. coli* 18-726 strain contained a significant spectrum of genes that enable properties of virulence (*iss*, *capU*, *aggA*, *aggB*, *aggC*, *aggD*, *aap*, *aar*) and resistance to antibacterial drugs (*bla*<sub>CTX-M-15</sub>, *bla*<sub>TEM-1B</sub>, *aadA1*, *aadA5*, *mph(A)*, *catB3*).

## STRAIN E. COLI ONT:H30 18-726

A new method for identifying enteroaggregative *E. coli* in chronic bowel disease is based on the polymerase chain reaction method using primers for a specific region of bacterial glutamate decarboxylase (gad) gene.

**Conclusion:**

1. The biochemical, antigenic and molecular genetic properties of *Escherichia coli* ONT:H30 18-726 strain (No. B-8857) isolated from a patient with histomorphologically diagnosed ulcerative colitis were analyzed.

2. A method for PCR identification of enteroaggregative *Escherichia coli* strains based on the detection of a specific region within the bacterial genomic glutamate decarboxylase gene has been created and patented.

**Key words:** *Escherichia coli*, EA<sub>g</sub>EC, ulcerative colitis, PCR, virulence, antibiotic resistance.

STRAIN E. COLI ONT:H30 18-726

1           **Введение.** В настоящее время в связи с внедрением и использованием  
2 молекулярно-генетических методов в лабораторную практику доступным  
3 становится изучение микробиома человека не только при инфекционной  
4 патологии, но и при различных полиэтиологичных нозологиях. Роль микробного  
5 фактора является дискуссионным вопросом в отношении воспалительных  
6 заболеваний кишечника (ВЗК) человека. Гипотеза, которая находится в процессе  
7 экспериментального подтверждения, заключается в выявлении специфического  
8 инфекционного агента, вызывающего заболевания, который не был обнаружен  
9 до настоящего времени. Также обсуждается вопрос о возникновении дисбаланса  
10 между индигенной микробиотой и слизистой оболочкой толстой кишки,  
11 который приводит к трансформации некоторых представителей нормобиоты, в  
12 частности *E. coli* [15]. Высокая пластичность генома *E. coli* способствует  
13 неконтролируемому формированию уникальных патогенных штаммов из  
14 комменсальных. Установлено, что распространенность штаммов-носителей  
15 генетических маркеров известных детерминант персистенции и патогенности в  
16 кишечной микробиоте здоровых лиц (без признаков острого или хронического  
17 заболевания ЖКТ) не превышает 10%. При снижении концентрации и  
18 активности индигенной микробиоты в популяции *E. coli* могут произойти  
19 изменения, способствующие увеличению клонов потенциальных патогенов.  
20 Опасность таких микробиологических нарушений становится очевидной,  
21 принимая во внимание чрезвычайно широкий спектр факторов вирулентности *E.*  
22 *coli*: эндо- и экзотоксины, цитотоксины, колицины, адгезины, инвазины, а также  
23 антилизосомная, антикомплементарная и гемолизирующая активность,  
24 способность подавлять фагоцитоз, гистоповреждающие ферменты и  
25 метаболиты, резистентность к антимикробным препаратам (АМП), способность  
26 к L-трансформации и др. [3,14]. В последние годы обсуждается роль адгезивно-  
27 инвазивных *E. coli* (АИЕС) в инициацию аутоиммунного процесса при болезни  
28 Крона (БК) [26]. Известно, что АИЕС могут проникать и размножаться в

STRAIN *E. COLI* ONT:H30 18-726

29 макрофагах, вызывая высвобождение большого количества фактора некроза  
30 опухоли (TNF)- $\alpha$ , который вызывает воспаление кишечника, характерное для БК  
31 [23,27]. При изучении причин возникновения язвенного колита (ЯК), который  
32 характеризуется поражением дистальных отделов толстой кишки, в последние  
33 годы также высказываются предположения о роли *E. coli* как возможного  
34 патобионта-инициатора заболевания [23, 27]. При среднетяжелом и тяжелом  
35 течении ЯК современные стандарты лечения регламентируют применение АМП  
36 [8,10,23].

37 **Цель исследования.** Изучить биологические свойства штамма *Escherichia coli*  
38 ONT:H30 18-726 (№ В-8857) и разработать новый способ детекции  
39 энтероаггративных штаммов *E. coli* из биопсийного материала пациентов с  
40 гистоморфологическим диагнозом «язвенный колит».

**Материалы и методы.**

42  
43 Исследование было проведено на базе эндоскопического отделения  
44 Клиник Самарского государственного медицинского университета (г. Самара).  
45 Биопсийный материал в соответствии критериям включения и исключения из  
46 исследования был получен в ходе стандартной эндоскопической процедуры при  
47 проведении колоноскопии 46 пациентов с гистоморфологически установленным  
48 диагнозом «язвенный колит» [4, 7]. Идентификацию штаммов *E. coli* проводили  
49 методом времяпролетной масс-спектрометрии (MALDI-TOF MS) с  
50 использованием системы Microflex LT (Bruker Daltonics, Германия) [1].  
51 Чувствительность к 18 антимикробным препаратам определяли диско-  
52 диффузионным методом с использованием агара Мюллера-Хинтон (ФБУН ГНЦ  
53 ПМБ, Россия) и дисков (Oxoid, Великобритания). Интерпретацию результатов  
54 проводили согласно Клиническим рекомендациям «Определение  
55 чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам» 2018 г. [9].  
56 Чувствительность к 5 препаратам бактериофагов: «Бактериофаг

## STRAIN E. COLI ONT:H30 18-726

57 колипротейный», «Пиобактериофаг поливалентный очищенный»,  
58 «Секстафаг». Пиобактериофаг поливалентный», «Пиобактериофаг  
59 комплексный», «Интести» бактериофаг» (АО «НПО Микроген», Россия)  
60 проводили согласно действующим клиническим рекомендациям [11].  
61 Положительную реакцию (наличие лизиса) определяли по наличию четко  
62 очерченного сливного лизиса (4+), полусливного (3+) или сосчитываемого числа  
63 отдельных негативных колоний, отчетливо видимых невооруженным глазом (2+  
64 – скопление в месте нанесения препарата более 50 негативных колоний, что  
65 свидетельствовало об умеренном содержании фаговых частиц в образце; 1+ –  
66 единичное присутствие фага в образце от 10 до 50 колоний фага). При отсутствии  
67 лизиса в местах нанесения фага наблюдали сплошной рост бактериальной  
68 культуры. Для интерпретации результатов использовали показатели: R –  
69 устойчив (0 / +), I – промежуточная чувствительность (++) , S – чувствителен (+++  
70 / +++++).

71 Принадлежность штаммов к диареегенным *E. coli* (DEC) проводили  
72 молекулярным методом с использованием набора реагентов  
73 «АмплиСенс®Эшерихиозы – FL» (ФБУН ЦИЭ, Россия) в режиме «реального  
74 времени» (амплификатор СХТ-1000, Bio-Rad, США). Подготовку библиотеки  
75 генома EAgEC проводили с помощью набора TrueSeq (Illumina Inc, США),  
76 секвенирование выполняли на платформе MiSeq (Illumina). Аннотацию генома  
77 проводили с помощью утилиты Prokka v. 1.11 и геномного сервера FAST. Для  
78 анализа последовательностей ДНК полных геномов штаммов *E. coli*  
79 использовали веб – сайт Центра геномной эпидемиологии  
80 (<https://cge.cbs.dtu.dk/services/>). Поиск генетических детерминант патогенности,  
81 вирулентности, антибиотикорезистентности и установление антигенной  
82 характеристики штамма (O - и H - антигенов) проводили с использованием  
83 онлайн сервисов: PathogenFinder (<https://cge.cbs.dtu.dk/services/PathogenFinder/>);  
84 VirulenceFinder (<https://cge.cbs.dtu.dk/services/VirulenceFinder/>); ResFinder 2.1



STRAIN E. COLI ONT:H30 18-726

85 (<https://cge.cbs.dtu.dk/services/ResFinder/>); SerotypeFinder 1.1

86 (<https://cge.cbs.dtu.dk/services/SerotypeFinder/>).

87 Разработка детекции штаммов EAgEC, колонизирующих дно язвенной  
88 поверхности слизистой оболочки толстой кишки при ЯК, базировалась на ПЦР-  
89 методике и заключалась в выявлении уникального сочетания SNP-  
90 полиморфизмов гена глутаматдекарбоксилазы (*gad*) *Escherichia coli* ONT:H30  
91 18-726.

92

### 93 **Результаты исследования.**

94 Скрининг принадлежности штаммов к DEC, проведенный молекулярным  
95 методом, выявил наличие специфичных EAgEC участков ДНК в штамме *E. coli*  
96 18-726. По культурально-ферментативным свойствам штамм EAgEC 18-726  
97 характеризовался типичными видовыми признаками *E. coli*: давал  
98 положительную реакцию с метиловым красным и отрицательную Фогес-  
99 Проскауэра, не расщеплял мочевины, не образовывал сероводород и  
100 фенилаланиндезаминазу, не ферментировал инозит и адонит, не рос на  
101 цитратном агаре Симмонса, был индол положительным, ферментировал маннит  
102 и глюкозу до кислоты и газа, обладал  $\beta$ -галактазидазной активностью. По  
103 ферментативным свойствам штамм проявлял вариабельность в отношении  
104 углеводов, спиртов и аминокислот (Таблица 1).

105

Таблица 1

### 106 **Основные ферментативные свойства штамма EAgEC 18-726, выделенного** 107 **от пациента с язвенным колитом**

108

109 Результаты изучения чувствительности к АМП EAgEC 18-726 показали,  
110 что штамм в соответствии с международными критериями характеризовался  
111 фенотипом множественной резистентности (MDR) – резистентность к трем и  
112 более классам АМП. Резистентность была отмечена к  $\beta$ - лактамам

## STRAIN E. COLI ONT:H30 18-726

113 (аминопенициллины, ингибитор-защищенные аминопенициллины,  
114 цефалоспорины III-IV поколения), хинолонам/фторхинолонам,  
115 аминогликозидам, тетрациклину, сульфаниламидам и триметоприму. Штамм  
116 сохранял чувствительность к карбапенемам (меропенем), хлорамфениколу и  
117 нитрофурантоину. Методом «двойных дисков» с цефтазидимом, цефотаксимом,  
118 цефепимом и амоксициллин/клавуланатом установлено, что штамм являлся  
119 продуцентом бета-лактамаз расширенного спектра (БЛРС).

120 Изучение спектра литического действия бактериофагов и их активности в  
121 отношении штамма EAgEC 18-726 выявило его фагорезистентность ко всем  
122 тестируемым препаратам (Таблица 2).

123

124

Таблица 2

**125 Чувствительность штамма EAgEC 18-726 к препаратам бактериофагов**

126

127

128 Анализ генома EAgEC 18-726, с помощью платформы SerotypeFinder 2.0  
129 (<https://cge.cbs.dtu.dk/services/SerotypeFinder/>) онлайн-ресурса «Center for  
130 Genomic Epidemiology» показал, что штамм имел уникальную  
131 последовательность гена, кодирующего O-антиген, которая отличалась от 188  
132 известных O-антигенов (ONT). По идентичности нуклеотидной  
133 последовательности гена, кодирующего синтез H-антигена штамм, принадлежал  
134 к серовару H30. Таким образом, антигенная формула штамма EAgEC 18-726  
135 выражалась как ONT:H30.

136 В таблице 3 представлены гены вирулентности штамма EAgEC ONT:H30  
137 18-726. Результаты анализа на платформе VirulenceFinder  
138 (<https://cge.cbs.dtu.dk/services/VirulenceFinder/>) показали наличие генов  
139 вирулентности с идентичностью 100-99,9% референтным образцам: ген *aar*  
140 (антиагрегационный белок, дисперзин), ген *aar* (белок-регулятор

STRAIN *E. COLI* ONT:H30 18-726

141 транскрипционного активатора класса AraC/XylS), ген *aggA* (большая  
142 субъединица адгезионно-агрегационных фимбрий I-го типа), ген *iss* (белок  
143 устойчивости к бактерицидному действию сыворотки крови), ген *capU* (гомолог  
144 гексозилтрансферазы); с идентичностью 99,7-99,56% референтным образцам ген  
145 *aggC* (периплазматический шаперон, сборщик начального этапа адгезивно-  
146 агрегационных фимбрий I-го типа) и ген *aggD* (Шаперон, сборщик адгезивно-  
147 агрегационных фимбрий I-го типа); с идентичностью 98,95% - ген *gad* (глутамат  
148 декарбоксилаза) и идентичностью 98,17% - ген *aggB* (белок афибриальной  
149 адгезивной оболочки энтеробактерий AfaD).

150

151

Таблица 3

152 **Характеристика генов вирулентности штамма *E. coli* ONT: H30 18-726,**153 **кодирующих механизмы реализации факторов патогенности**

154

155 Анализ сборки геномных данных с использованием интернет-сервиса  
156 *ResFinder – 4.1.* выявил совокупность генетических механизмов реализации  
157 устойчивости к антибиотикам, которые описаны в таблице 4.

158

Таблица 4

159 **Характеристика генов штамма *E. coli* ONT: H30 18-726, кодирующих**160 **механизмы устойчивости к антибактериальным препаратам**

161 Штамм *Escherichia coli* ONT:H30 18-726 был депонирован в  
162 Государственной коллекции патогенных микроорганизмов и клеточных культур  
163 «ГКПМ-Оболенск» ФБУН ГНЦ ПМБ с присвоением регистрационного номера  
164 В-8857 и выдачей свидетельства о депонировании от 25.11.2019 г. № 193.

165 Представленность широкого спектра генов, кодирующих факторы  
166 вирулентности, наличие значительного количества мобильных генетических  
167 элементов, а также множественная резистентность к АМП и фагоустойчивость  
168 *E. coli* ONT:H30 18-726 обосновали необходимость в создании способа

STRAIN *E. COLI* ONT:H30 18-726

169 выявления аналогичных штаммов в биологическом материале пациентов с ЯК.  
170 Метод основан на выявлении уникального сочетания SNP-полиморфизмов гена  
171 глутамат декарбоксилазы (*gad*) расположенных в диапазоне –  
172 NZ\_GL896790.1:2763405-2763726 штамма *E. coli* ONT:H30 18-726 с  
173 использованием четырех специфических праймеров. Нуклеотидные  
174 последовательности праймеров представлены в таблице 5. Проведение детекции  
175 возможно, как в режиме «реального времени», так и с последующей  
176 электрофоретической детекций.

177

## Таблица 5

178

179 **Нуклеотидные последовательности праймеров, для детекции SNP-**  
180 **полиморфизмов гена *gad***

181

182

182 Состав реакций: вода, пара праймеров – 0,4 мкМ каждого, 1x буфер для  
183 амплификации, концентрация Mg<sup>2+</sup> – 2,5 мМ, 1x SybrGreen для детекции в  
184 «режиме реального времени», 1x раствор полимеразы без экзонуклеазной  
185 активности, матрица ДНК – 5 мкл на 20 мкл реакционной среды, режим  
186 амплификации представлен следующим образом и приведен в таблице 6.

187

## Таблица 6

188

188 **Режимы амплификации для детекции SNP-полиморфизмов гена *gad***

189

190

191 При детекции в режиме «реального времени» о наличии EAgEC  
192 свидетельствует повышение интенсивности флуоресценции по каналу FAM в  
193 обеих реакционных смесях одновременно, при этом пороговое значение цикла  
194 (Ct) – 35. При гель-электрофоретической детекции о наличии  
195 энтероаггративного штамма *E. coli* можно судить по наличию продуктов  
196 амплификации специфических длин в обеих реакционных смесях одновременно:

STRAIN *E. COLI* ONT:H30 18-726

197 для первой реакции – 292 п.н., для второй – 240 п.н. [5]. Получен патент на  
198 изобретение «Способ выявления энтероаггративных штаммов *Escherichia coli*  
199 из толстой кишки у пациентов с воспалительными заболеваниями кишечника»  
200 (№ 2758475 RU от 28.10.2021) [5].

201

**Обсуждение результатов.**

203 Воспалительные заболевания кишечника, к которым относится язвенный  
204 колит, являются одной из наиболее серьезных проблем гастроэнтерологии во  
205 всех странах. По тяжести течения, частоте осложнений и летальности они  
206 занимают ведущее место в структуре болезней желудочно-кишечного тракта  
207 (ЖКТ) [8,18]. Несмотря на многолетнюю историю изучения, этиология ЖК  
208 остается неизвестной, а патогенез недостаточно раскрыт [8].

209 Патогенные *E. coli* характеризуются широким спектром факторов  
210 вирулентности, включая адгезины, токсины, сидерофоры, капсулы и инвазины и  
211 др. Такие штаммы могут вызвать патологический процесс практически каждого  
212 органа или системы. Не исключена роль *E. coli* при хронических заболеваниях  
213 ЖКТ, в инициации и поддержании патологического воспалительного процесса,  
214 а также язвенно-некротических реакций [16]. Генетическое разнообразие *E. coli*,  
215 наличие специфических генов вирулентности позволяют предположить  
216 этиологическую значимость этих микроорганизмов в развитии ЖК [6,28].  
217 Штаммы EAgEC – одной из шести патогрупп диареогенных *E. coli* (DEC),  
218 вызывают острые кишечные инфекции (ОКИ) детей и взрослых во всех странах.  
219 Метааналитические эпидемиологические исследования выявили статистически  
220 значимую связь EAgEC с диареями: острыми, продолжительными,  
221 хроническими, ВИЧ-инфицированных и путешественников [17]. Длительная  
222 персистенция EAgEC может вызывать хроническое воспаление кишечника,  
223 снижая его абсорбционную функцию, приводя к алиментарной дистрофии,  
224 анемии, гипопропротеинемии, нарушениям физического и когнитивного состояния

## STRAIN E. COLI ONT:H30 18-726

225 [20]. EAgEC в отличии от других патогенных *E. coli* характеризует широкая  
226 вариабельность генетических маркеров вирулентности [16,24]. Это указывает на  
227 то, вызывать воспалительный процесс способны только штаммы EAgEC,  
228 несущие специфические гены вирулентности. В то же время, ни один из  
229 факторов вирулентности не был неопровержимо связан с вирулентностью  
230 EAgEC, а гены, кодирующие их, не присутствуют равномерно во всех  
231 изолированных штаммах. Эксперименты *in vitro*, *in vivo* и *ex vivo* убедительно  
232 показали, что EAgEC могут адгезироваться с эпителиальными клетками тощей,  
233 подвздошной и толстой кишки, образуя прочную биопленку с последующим  
234 цитотоксическим и провоспалительным действием. Патогенез заболевания  
235 включает три этапа: (а) обильное прилипание к слизистой оболочке кишечника  
236 – адгезия и колонизация, (б) продукция цитотоксинов и энтеротоксинов, (в)  
237 индукция воспаления слизистой оболочки. Воспаление, вызванное EAgEC,  
238 является результатом обильной колонизации слизистой оболочки кишечника  
239 [12,19].

240 Проведенный анализ полногеномного секвенирования показал, что у  
241 штамма *E. coli* ONT:H30 18-726 (№ В-8857) присутствуют несколько  
242 детерминант, ассоциированных с адгезией и колонизацией - *aggA*, *aggB*, *aggC* и  
243 *aggD*, кодирующих активатор транскрипции экспрессии хромосомных и  
244 плазмидо-кодируемых факторов вирулентности, включая антиагрегационный  
245 белок дисперзин (ген *aap*), который способствует проникновению бактерии  
246 через слизь крипт толстой кишки [25]. Данный метаболический путь может  
247 привести и генерализации инфекции – развитию сепсиса, за счет блокировки  
248 фибриногена, который участвует в механизме тромбоза – защитной реакции  
249 организма при сепсисе [2,21]. Вирулентный адгезивный аппарат дополнительно  
250 представлен геном агрегативного регулона – *aar*, который обеспечивает  
251 активность более 40 генетических элементов ответственных за взаимодействие с  
252 эпителиальными клетками кишечника человека [22]. У изученного штамма был

STRAIN *E. COLI* ONT:H30 18-726

253 идентифицирован ген *iss*, обеспечивающий устойчивость к бактерицидному  
254 действию сыворотки крови, наличие которого можно расценивать как потенциал  
255 гематогенной генерализации инфекции или существенному ухудшению течения  
256 основного заболевания в настоящем случае – ЯК.

257 К одним из основных препаратов для лечения ЯК и поддержания ремиссии  
258 относятся АМП, поэтому проблема антибиотикорезистентности представляется  
259 особо актуальной. Проведенное исследование показало, что штамм *E. coli*  
260 ONT:H30 18-726 (№ В-8857) характеризовался множественной устойчивостью к  
261 АМП разных групп. Резистентность к цефалоспорином III-IV поколения  
262 обусловлена продукцией эпидемически значимой цефалоспориныазы СТХ-M15 –  
263 глобально распространенного типа в популяции грамотрицательных бактерий.  
264 Низкая литическая активность и полная фагоустойчивость к биологическим  
265 препаратам – бактериофагам в отношении изученного штамма предполагает  
266 невозможность применения отечественных препаратов к элиминации данного  
267 патогена при эмпирической терапии ЯК. Фагоустойчивость к биологическим  
268 агентам отмечается в литературе и характеризуется развитием резистентности к  
269 препаратам данного типа, а также необходимостью регулярного обновления  
270 фармакологического набора фаготерапевтических препаратов [13].

271 Таким образом, данные, полученные по результатам полногеномного  
272 секвенирования штамма EAgEC, выделенного от пациента с  
273 гистоподтвержденным диагнозом «язвенный колит», свидетельствуют, что  
274 традиционные культуральные методы изучения штаммов *E. coli*,  
275 колонизирующих кишечник пациентов с ЯК, включая определение  
276 чувствительности к АМП подходят только для фенотипической характеристики  
277 выделенного изолята. В виду этого одним из перспективных направлений в  
278 детекции EAgEC у пациентов с воспалительными заболеваниями кишечника, а  
279 также изучение механизмов резистентности к АМП, становится применение  
280 современных генетических методик: ПЦР, секвенирование и др. Использование

## STRAIN E. COLI ONT:H30 18-726

281 дополнительных методов позволит получить информацию, необходимую  
282 клиницисту для принятия решения о назначении адекватной этиотропной  
283 терапии пациентов с ЯК. Для получения достоверных данных об этиологии ЯК  
284 и роли EA<sub>g</sub>EC в патогенезе воспаления толстого кишечника требуется  
285 проведение дальнейших исследований. Особенно это становится актуальным в  
286 связи с широким распространением среди больных ЯК грамотрицательных  
287 бактерий с фенотипом множественной резистентности к АМП, продуцирующих  
288 БЛРС.

289 **Благодарности.** Особая благодарность выражается Никите Андреевичу  
290 Буланцеву – выпускнику магистратуры SCAMT ИТМО (г. Санкт-Петербург) за  
291 помощь в обработке массивов сиквенс-данных.



STRAIN E. COLI ONT:H30 18-726

## ТАБЛИЦЫ

**Таблица 1 Основные ферментативные свойства штамма EAgEC 18-726, выделенного от пациента с язвенным колитом**

**Table 1 Main enzymatic properties of strain EAgEC 18-726 isolated from a patient with ulcerative colitis**

Тест или Субстрат Assay or substrate	Штамм EAgEC 18-726 strain	Тест или субстрат Assay or substrate	Штамм EAgEC 18-726
Лактоза Lactose	+	Дульцит Dulcitol	+
Сахароза Sucrose	-	Сорбит Sorbitol	-
Арабиноза Arabinose	-	Салицин Salicin	-
Мальтоза Maltose	-	Орнитин Ornithine	+
Ксилоза Xylose	-	Лизин Lysine	+
Рамноза Rhamnose	+	Аргинин Arginine	-

«+» - положительная реакция; «-» - отрицательная реакция

Comments: “+” - positive reaction; “-” - negative reaction

STRAIN E. COLI ONT:H30 18-726

**Таблица 2 Чувствительность штамма EAgEC 18-726 к препаратам бактериофагов**

**Table 2 Sensitivity of strain EAgEC 18-726 to bacteriophage preparations**

Наименование препарата Preparation	Наличие лизиса Lysis	Результат Result
Бактериофаг колипротейный coli-Proteus bacteriophage	<<->	R
Пиобактериофаг поливалентный Очищенный Pyobacteriophage polyvalent purified	<<1+>	R
Пиобактериофаг поливалентный «Секстафаг». Pyobacteriophage polyvalent "Sextaphage"	<<->	R
Пиобактериофаг комплексный Pyobacteriophage complex	<<->	R
Бактериофаг «Интести» Bacteriophage "Intesti"	<<->	R

<<-> отсутствие литической активности; <<1+> низкая литическая активность; R – не чувствителен к бактериофагу

STRAIN *E. COLI* ONT:H30 18-726

**Таблица 3 Характеристика генов вирулентности штамма *E. coli* ONT: H3018-726, кодирующих механизмы реализации факторов патогенности**

**Table 3 Characteristics of the virulence genes of *E. coli* ONT: H30 18-726 strain encoding mechanisms to enable pathogenicity factors**

Ген Gene	Идентичность, % Identity, %	Референт/ разец, п.н. Reference / mple, bp	Функция белка Protein function	Референс- номер reference No.
<i>aap</i>	100	351/351	Антиагрегационный белок, дисперзин Anti-aggregation protein, dispersin	Z32523
<i>aar</i>	100	201/201	Белок-регулятор транскрипционного активатора класса AraC/XylS AraC/XylS class regulator protein transcriptional activator	SSI_AA794
<i>aggA</i>	100	516/516	Большая субъединица адгезивно-агрегационных фимбрий I-го типа type I adhesive-aggregation fimbriae large subunit	SSI_AA804
<i>aggB</i>	98.17	438/438	Белок афибриально - адгезивной оболочки энтеробактерий AfaD. Enterobacterial afibrilial-adhesive membrane AfaD protein	U12894
<i>aggC</i>	99.7	2311/ 2385	Периплазматический шаперон, сборщик начального этапа адгезионно-агрегационной фимбрий I-го типа Periplasmic chaperone, assembler of the initial stage for adhesion-aggregation type I fimbriae	AFRH01000026
<i>aggD</i>	99.56	687/759	Шаперон, сборщик адгезионно-агрегационной фимбрий I-го типа Chaperone, adhesion-aggregation type I fimbriae collector	U12894

## STRAIN E. COLI ONT:H30 18-726

<i>capU</i>	99.9	1016/ 1089	Гомолог гексозилтрансферазы Hexosyltransferase homologue	CU928145
<i>gad</i>	98.95	1243 / 1401	Глутамат декаброксилаза Glutamate decabroxylase	FN554766
<i>iss</i>	100	294/294	Устойчивость к бактерицидному действию сыворотки крови Resistance to blood serum bactericidal effect	CP001846

STRAIN E. COLI ONT:H30 18-726

**Таблица 4 Характеристика генов штамма *E. coli* ONT: H30 18-726,**

**кодирующих механизмы устойчивости к антибактериальным препаратам**

**Table 4 Characteristics of the *E. coli* ONT: H30 18-726 strain genes encoding mechanisms of antibacterial drug resistance**

Ген / Gene	Идентичность, % / Identity %	Референт/образец, п.н. / Reference / sample, bp	Контиг / Contig	Референс-номер / Reference No.
<b>Гены устойчивости к бета-лактамам / Beta-lactam antibiotic resistance genes</b>				
<i>blaCTX-M-15</i>	100	876/876	NODE_386_length_4574_cov_78.801483	AY044436
<i>blaTEM-1B</i>	100	861/861	NODE_474_length_3323_cov_77.119469	AY45
<b>Гены устойчивости к аминогликозидам / Aminoglycoside resistance genes</b>				
<i>AAC (3) -IIa</i>	99,77	861/861	NODE_90_length_2624_cov_87.983994	X51534
<i>AAC (6' ) -Ib-кр</i>	100	600/600	NODE_793_length_723_cov_95.589211	DQ303918
<i>aadA1</i>	100	789/789	NODE_120_length_24792_cov_89.782104	JQ480156
<i>aadA5</i>	100	789/789	NODE_380_length_1006_cov_86.854874	AF137361

## STRAIN E. COLI ONT:H30 18-726

<i>APH (3 ") - Ib</i>	100	803/804	NODE_215_length_4521_cov_79.155052	AF024602
<i>APH (3 ") - Ib</i>	99,88	804/804	NODE_215_length_4521_cov_79.155052	AF313472
<b>Ген</b>	<b>Идентичность, %</b>	<b>Референт/образец, п.н.</b>	<b>Контиг</b>	<b>Референс-номер</b>
<b>Гены устойчивости к бета-лактамам антибиотикам</b>				
<i>blaCTX-M-15</i>	100	876/876	NODE_386_length_4574_cov_78.801483	AY044436
<i>blaTEM-1B</i>	100	861/861	NODE_474_length_3323_cov_77.119469	AY45
<b>Гены устойчивости к аминогликозидам</b>				
<i>AAC (3) -IIa</i>	99,77	861/861	NODE_90_length_2624_cov_87.983994	X51534
<i>AAC (6' ) - Ib-кр</i>	100	600/600	NODE_793_length_723_cov_95.589211	DQ303918
<i>aadA1</i>	100	789/789	NODE_120_length_24792_cov_89.782104	JQ480156
<i>aadA5</i>	100	789/789	NODE_380_length_1006_cov_86.854874	AF137361

## STRAIN E. COLI ONT:H30 18-726

<i>APH (3 ") - Ib</i>	100	803/804	NODE_215_length_4521_cov_79.155052	AF02460 2
<i>APH (3 ") - Ib</i>	99,88	804/804	NODE_215_length_4521_cov_79.155052	AF31347 2
<i>APH (3 ") - Ib</i>	99,88	804/804	NODE_215_length_4521_cov_79.155052	AF32155 0
<i>APH (3 ") - Ib</i>	99,88	804/804	NODE_215_length_4521_cov_79.155052	AF32155 1
<i>APH (6) -Id</i>	100	837/837	NODE_215_length_4521_cov_79.155052	M28829
<i>aadA1</i>	100	789/789	NODE_120_length_24792_cov_89.782104	JQ48015 6
<b>Гены устойчивости к макролидам / Macrolide resistance genes</b>				
<i>Mdf(A)</i>	98.13	1233/1233	NODE_176_length_28514_cov_76.946098	Y08743
<i>mph(A)</i>	100	906/906	NODE_203_length_7502_cov_81.290855	D16251
<b>Гены устойчивости к хлорамфениколу / Chloramphenicol resistance genes</b>				
<i>catB3</i>	100	442/633	NODE_741_length_781_cov_64.875801	AJ00981 8
<i>catB3</i>	100	442/633	NODE_741_length_781_cov_64.875801	U13880

## STRAIN E. COLI ONT:H30 18-726

<b>Гены устойчивости к хинолонам / Quinolone resistance genes</b>				
<i>AAC (6') – Ib-кр</i>	100	600/600	NODE_793_length_723_cov_ 95.589211	DQ30391 8
<b>Гены устойчивости к сульфаниламидам / Sulfonamide resistance genes</b>				
<i>sul1</i>	100	840/840	NODE_203_length_7502_cov _81.290855	U12338
<i>sul2</i>	100	816/816	NODE_515_length_4637_cov _74.394867	AY03413 8
<b>Гены устойчивости к тетрациклину / Tetracycline resistance genes</b>				
<i>Tet (D)</i>	100	1185/1185	NODE_474_length_3323_cov _77.119469	AF46707 7
<b>Гены устойчивости к триметроприму / Trimetoprim resistance genes</b>				
<i>dfrA1</i>	100	474/474	NODE_120_length_24792_co v_89.782104	X00926
<i>dfrA17</i>	100	354/474	NODE_309_length_1052_cov _83.835548	AM9372 44
<i>dfrA17</i>	100	354/474	NODE_309_length_1052_cov _83.835548	FJ460238



STRAIN E. COLI ONT:H30 18-726

**Таблица 5 Нуклеотидные последовательности праймеров, для детекции SNP-полиморфизмов гена *gad***

**Table 5 Nucleotide primer sequences for detecting SNP polymorphisms in the bacterial *gad* gene**

Праймеры первой реакционной Смеси / first reaction mix primers	Праймеры второй реакционной смеси / second reaction mix primers
F1: CGTCAGAACCTGGCCACTTTT	F2: TCGACCTGCGTTGCGTAAAC
R1: TATCCGTTGGTTTGCCTGCA	R2: CATCCCAGTAGCGGGCG
Размер ПЦР-продукта: 292 п.н. PCR product size: 292 bp.	Размер ПЦР-продукта: 240 п.н. PCR product size: 240 bp.
Реакции с обеими парами праймеров проводятся отдельно друг от друга PCR with both pairs of primers is carried out separately	

STRAIN E. COLI ONT:H30 18-726

**Таблица 6 Режимы амплификации для детекции SNP-полиморфизмов гена *gad*****Table 6 Amplification modes for detection of *gad* gene SNP polymorphisms**

№ Цикла Cycle No.	Температурный режим, °С Temperature mode, °С	Длительность цикла, t Cycle length, t	Кратность циклов / number of cycles
1.	95	5 мин / 5min	1
2.	95	30 сек/30sec	40
3.	65	65 сек/65sec	
4.	72	20 сек/20sec	
5.	72	5 мин/5min	1

## ТИТУЛЬНЫЙ ЛИСТ\_МЕТАДААННЫЕ

### Блок 1. Информация об авторе ответственном за переписку

**Круглов Е.Е.**, к.м.н., младший научный сотрудник Института экспериментальной медицины и биотехнологий ФГБОУ ВО Самарский государственный медицинский университет Минздрава России, г. Самара, Россия

**Kruglov E.E.**, Candidate of Medical Sciences, Junior Researcher, Institute of Experimental Medicine and Biotechnology, Samara State Medical University, Samara, Russia, ORCID: 0000-0002-6955-1025, [krugegr@rambler.ru](mailto:krugegr@rambler.ru).

### Блок 2. Информация об авторах

**Макарова М.А.**, д.м.н., старший научный сотрудник лаборатории идентификации патогенов ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, г. Санкт-Петербург, Россия

**Кафтырева Л.А.**, д.м.н., заведующая лабораторией кишечных инфекций ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, г. Санкт-Петербург, Россия

**Makarova M.A.**, PhD, Senior Researcher, Laboratory of Pathogen Identification, Pasteur Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Associate Professor of Department of Medical Microbiology of Mechnikov North-Western State Medical University, St. Petersburg, Russia, ORCID: 0000-0003-3600-2377, [makmaria@mail.ru](mailto:makmaria@mail.ru)

**Kaftyreva L.A.**, PhD, Head of the Laboratory of Intestinal Infections, Pasteur Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Professor of Department of

STRAIN E. COLI ONT:H30 18-726

Medical Microbiology of Mechnikov North-Western State Medical University St. Petersburg, Russia, ORCID: 0000-0003-0989-1404, [kafliidia@mail.ru](mailto:kafliidia@mail.ru)

### **Блок 3. Метаданные статьи**

БИОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ЭНТЕРОАГГРЕГАТИВНОГО ШТАММА ESCHERICHIA COLI ONT:H30 18-726 (№ В-8857), ВЫДЕЛЕННОГО ОТ ПАЦИЕНТА С ЯЗВЕННЫМ КОЛИТОМ, И НОВЫЙ СПОСОБ ПЦР-ИДЕНТИФИКАЦИИ

BIOLOGICAL CHARACTERISTICS OF THE ENTEROAGGREGATIVE STRAIN ESCHERICHIA COLI ONT: H30 18-726 (No. B-8857) ISOLATED FROM A PATIENT WITH ULCERATIVE COLITIS AND A NEW METHOD OF PCR IDENTIFICATION

#### **Сокращенное название статьи для верхнего колонтитула:**

ШТАММ E. COLI ONT:H30 18-726

STRAIN E. COLI ONT:H30 18-726

**Ключевые слова:** Escherichia coli, EAgEC, язвенный колит, ПЦР, вирулентность, антибиотикорезистентность.

**Key words:** Escherichia coli, EAgEC, ulcerative colitis, PCR, virulence, antibiotic resistance.

Оригинальные статьи

Количество страниц текста – N, количество таблиц – N, количество рисунков – N.

Дата поступления.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Порядковый номер ссылки	Авторы, название публикации и источника, где она опубликована, выходные данные	ФИО, название публикации и источника на английском	Полный интернет-адрес (URL) цитируемой статьи и/или DOI
1	Баранцевич Е.П., Баранцевич Н.Е. Применение maldi-tof масс-спектрометрии в клинической микробиологии. Трансляционная медицина. 2014. № 3. – С. 23-28. doi: 10.18705/2311-4495-2014-0-3-23-28 [Barantsevich E.P., Barantsevich N.E. Primenenie maldi-tof mass-spektrometrii v klinicheskoy mikrobiologii. Translyatsionnaya meditsina, 2014, no. 3, pp. 23-28. (In Russ.)]	Barantsevich E.P., Barantsevich N.E. MALDI-TOF mass spectrometry in clinical microbiology. Translational medicine. 2014. No. 3. - S. 23-28.	[doi: 10.18705/2311-4495-2014-0-3-23-28]
2	Галстян Г.М., Гапонова Т.В., Жибурт Е.Б., Балашова Е.Н., Берковский А.Л., Быстрых О.А., Купряшов А.А., Оловникова Н.И., Ошоров А.В., Рыбка М.М., Троицкая В.В., Буланов А.Ю., Журавель С.В., Лубнин А.Ю., Мазурок В.А., Недомолкин С.В., Певцов Д.Э., Рогачевский О.В., Салимов Э.Л., Трахтман П.Е., Чжао А.В., Шерстнев Ф.С., Савченко В.Г. Клиническое	Galstyan G.M., Gaponova T.V., Zhiburt E.B., Balashova E.N., Berkovskiy A.L., Bystrykh O.A., Kupryashov A.A., Olovnikova N.I., Oshorov A.V., Rybka M.M., Troitskaya V.V., Bulanov A.Yu., Zhuravel S.V., Lubnin A.Yu., Mazurok V.A., Nedomolkin S.V., Pevtcov D.E., Rogachevskiy O.V.,	[doi: 10.35754/0234-5730-2020-65-1-87-114]

	использование криопреципитата // Гематология и трансфузиология. 2020, Т. 65, №1. – С. 87-114. [Galstyan G.M., Gaponova T.V., Zhiburt E.B., Balashova E.N., Berkovskiy A.L., Bystrykh O.A., Kupryashov A.A., Olovnikova N.I., Oshorov A.V., Rybka M.M., Troitskaya V.V., Bulanov A.Yu., Zhuravel S.V., Lubnin A.Yu., Mazurok V.A., Nedomolkin S.V., Pevtcov D.E., Rogachevskiy O.V., Salimov E.L., Trakhtman P.E., Chzhao A.V., Sherstnev F.S., Savchenko V.G. Klinicheskoe ispolzovanie krioprecipitata. Russian journal of hematology and transfusiology. 2020, vol. 65, no. 1, pp. 87-114. (In Russ.). doi: 10.35754/0234-5730-2020-65-1-87-114]	Salimov E.L., Trakhtman P.E., Chzhao A.V., Sherstnev F.S., Savchenko V.G. Clinical guidelines for cryoprecipitate transfusions. Russian Journal of Hematology and Transfusiology (Gematologiya i transfuziologiya). 2020, vol. 65, no. 1, pp. 87-114.	
3	Егорова С.А., Кафтырева Л.А., Липская Л.В., Коноваленко И.Б., Пясетская М.Ф., Курчи́кова Т.С., Ведерникова Н.Б., Морозова О.Т., Смирнова М.В., Попенко Л.Н., Любушкина М.И., Савочкина Ю.А., Макарова М.А., Сужаева Л.В., Останкова Ю.В., Иванова М.Н., Павелкович А.М., Наабер П., Сепп Э., Кыльялг С., Мицюлявичене И., Балодэ А. Штаммы	Egorova S.A., Kaftyreva L.A., Lipskaya L.V., Konovalenko I.B., Pyasetskaya M.F., Kurchikova T.S., Vedernikova N.B., Morozova O.T., Smirnova M.V., Popenko L.N., Lubushkina M.I., Savochkina J.A., Makarova M.A., Suzhaeva L.V., Ostankova J.V., Ivanova M.N., Pavelkovich A.M.,	[doi: 10.15789/2220-7619-2013-1-29-36]

## STRAIN E. COLI ONT:H30 18-726

	<p>энтеробактерий, продуцирующие бета-лактамазы расширенного спектра и металло-<math>\beta</math>-лактамазу ndm-1, выделенные в стационарах в странах Балтийского региона. Инфекция и иммунитет. 2013. Т. 3, № 1. – С. 29-36. [Egorova S.A., Kaftyreva L.A., Lipskaya L.V., Konovalenko I.B., Pyasetskaya M.F., Kurchikova T.S., Vedernikova N.B., Morozova O.T., Smirnova M.V., Popenko L.N., Lyubushkina M.I., Savochkina Yu.A., Makarova M.A., Suzhaeva L.V., Ostankova Yu.V., Ivanova M.N., Pavelkovich A.M., Naaber P., Sepp E., Kyl'yalg S., Mitsyulyavichene I., Balode A. Shtammy enterobakteriy, produtsiryuyushchie beta-laktamazy rasshirennogo spektra i metallo-<math>\beta</math>-laktamazu ndm-1, vydelennye v statsionarakh v stranakh Baltiyskogo regiona. Infektsiya i immunitet = Russian journal of infection and immunity, 2013, vol. 3, no. 1, pp. 29-36 (In Russ.) doi: 10.15789/2220-7619-2013-1-29-36]</p>	<p>Naaber P., Sepp E., Kljalg S., Miciuleviciene J., Balode A. Enterobacteriaceae, producing ESBLs and metallo-<math>\beta</math>-lactamase NDM-1, isolated in hospitals of Baltic region countries. Infekc. immun., 2013, vol. 3, N 1, p. 29–36.</p>	
4	<p>Каторкин С.Е., Жестков А.В., Суворова Г.Н., Мякишева Ю.В., Лямин А.В., Андреев П.С., Давыдова О.Е., Круглов Е.Е. Комплексная характеристика</p>	<p>Katorkin S.E., Zhestkov A.V., Suvorova G.N., Myakisheva Yu.V., Lyamin A.V., Andreev P.S., Davydova O.E., Kruglov</p>	<p>URL: <a href="https://elibrary.ru/item.asp?id=41341166">https://elibrary.ru/item.asp?id=41341166</a> (31.08.2023)</p>

	<p>клинических, патоморфологических, микробиологических особенностей язвенного колита // Военно- медицинский журнал. 2019. Т. 340, № 10. С. 68-71. [Katorkin S.E., Zhestkov A.V., Suvorova G.N., Myakisheva Yu.V., Lyamin A.V., Andreev P.S., Davydova O.E., Kruglov E.E. Kompleksnaya kharakteristika klinicheskikh, patomorfologicheskikh, mikrobiologicheskikh osobennostey yazvennogo kolita // Voenno- meditsinskiy zhurnal = Military medical journal, 2019, vol. 340, no. 10, pp. 68-71. (In Russ.)]</p>	<p>E.E. – Complex characteristics of clinical, pathological and microbiological features of ulcerative colitis. Military Medical Journal. 2019. Vol. 340, No. 10. S. 68-71.</p>	
5	<p>Круглов Е.Е., Мякишева Ю.В., Викторов Д.А., Соловьев А.В., Лямин А.В., Жестков А.В., Макарова М.А., Кафтырева Л.А. Способ выявления энтероаггративных штаммов <i>Escherichia coli</i> из толстой кишки у пациентов с воспалительными заболеваниями кишечника. Патент на изобретение № 2758475 RU от 28.10.2021 Бюл. №31-2021. [Kruglov E.E., Mjakisheva Ju.V., Viktorov D.A., Solov'ev A.V., Ljamin A.V., Zhestkov A.V., Makarova M.A., Kaftyreva L.A. Sposob vyjavlenija jenteroaggregativnyh shtammov Escherichia</p>	<p>Kruglov E.E., Myakisheva Yu.V., Viktorov D.A., Solovyov A.V., Lyamin A.V., Zhestkov A.V., Makarova M.A., Kaftyreva L.A. A method for detecting enteroaggregative strains of <i>Escherichia coli</i> from the colon in patients with inflammatory bowel diseases. Patent for invention No. 2758475 RU dated October 28, 2021 Bulletin. No. 31-2021.</p>	<p>URL: <a href="https://www.elibrary.ru/item.asp?id=47259159">https://www.elibrary.ru/item.asp?id=47259159</a> (07.06.2022)</p>



## STRAIN E. COLI ONT:H30 18-726

	coli iz tolstoj kishki u pacientov s vospalitel'nymi zabojevanijami kishechnika. Patent na izobrenie № 2758475 RU ot 28.10.2021 Vjul. №31 (In Russ.)] URL: <a href="https://www.elibrary.ru/item.asp?id=47259159">https://www.elibrary.ru/item.asp?id=47259159</a> (07.06.2022)		
6	Макарова М.А., Круглов Е.Е., Матвеева З.Н., Зверьякина Н.Н., Кафтырева Л.А. Характеристика штаммов <i>Escherichia coli</i> , выделенных при остром аппендиците и хроническом язвенном колите // Проблемы медицинской микологии. 2020. Т.22, №4. – С. 66-71. [Makarova M.A., Kruglov E.E., Matveeva Z.N., Zveryakina N.N., Kaftyreva L.A. Kharakteristika shtamov <i>Escherichia coli</i> , vydelennykh pri ostrom appenditsite i khronicheskom yazvennom kolite // Problems in medical mycology. 2020, vol. 22, no. 4, pp. 66-71. (In Russ.) doi: 10.24412/1999-6780-2020-4-66-71]	Makarova M.A., Kruglov E.E., Matveeva Z.N., Zveryakina N.N., Kaftyreva L.A. Characteristics of <i>Escherichia coli</i> strains isolated in acute appendicitis and ulcerative colitis // Problems in medical mycology. 2020. Vol. 22, No. 4. - S. 66-71.	[doi: 10.24412/1999-6780-2020-4-66-71]
7	Суворова Г.Н., Мякишева Ю.В., Каторкин С.Е., Андреев П.С., Давыдова О.Е., Лямин А.В., Круглов Е.Е., Сухачев П.А. Гистологическая картина и микробный пейзаж при язвенном колите // Вестник новых медицинских	Suvorova G.N., Myakisheva Yu.V., Katorkin S.E., Andreev P.S., Davydova O.E., Lyamin A.V., Kruglov E.E., Sukhachev P.A. Histology and microbic landscape with ulcerative colitis //	[doi: 10.24411/1609-2163]

## STRAIN E. COLI ONT:H30 18-726

	технологий. 2018. Т. 25, № 4. С. 170–175. [Suvorova G.N., Myakisheva Yu.V., Katorkin S.E., Andreev P.S., Davydova O.E., Lyamin A.V., Kruglov E.E., Sukhachev P.A. Gistologicheskaya kartina i mikrobnuyu peyzazh pri yazvennom kolite // Vestnik novykh meditsinskikh tekhnologiy = Journal of New Medical Technologies, 2018, vol. 25, no. 4, pp. 170-175. doi: 10.24411/1609-2163 (In Russ.)]	Journal of new medical technologies. 2018. V. 25, No. 4. S. 170–175.	
8	Клинические рекомендации «Язвенный колит». 2020, ID 193. [Klinicheskie rekomendacii «Jazvennyj kolit». 2020, ID 193. (In Russ.)] URL: <a href="https://cr.minzdravc.gov.ru/recomend/193_1">https://cr.minzdravc.gov.ru/recomend/193_1</a> (31.05.2022)	Clinical guidelines «Ulcerative colitis». 2020, ID 193.	URL: <a href="https://cr.minzdravc.gov.ru/recomend/193_1">https://cr.minzdravc.gov.ru/recomend/193_1</a> (31.05.2022)
9	Переводы документов EUCAST / Межрегиональная ассоциация по клинической микробиологии и антимикробной химиотерапии. [Translations of EUCAST / Interregional Association for Clinical Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy documents (In Russ.)]. URL: <a href="https://www.antibiotic.ru/minzdrav/category/clinical-recommendations/">https://www.antibiotic.ru/minzdrav/category/clinical-recommendations/</a> (31.05.2022)	Translations of EUCAST / Interregional Association for Clinical Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy documents	URL: <a href="https://www.antibiotic.ru/minzdrav/category/clinical-recommendations/">https://www.antibiotic.ru/minzdrav/category/clinical-recommendations/</a> (31.05.2022)

## STRAIN E. COLI ONT:H30 18-726

10	Приказ Минздравсоцразвития России от 8.06.2007 № 406 «Об утверждении стандарта медицинской помощи больным с язвенным колитом (при оказании специализированной помощи)» [Order of the Ministry of Health and Social Development of Russia dated June 8, 2007 No. 406 «On approval of the standard of medical care for patients with ulcerative colitis (in the provision of specialized care)» (In Russ.)]. URL: <a href="https://docs.cntd.ru/document/902048232">https://docs.cntd.ru/document/902048232</a> (31.05.2022)	Order of the Ministry of Health and Social Development of Russia dated June 8, 2007 No. 406 «On approval of the standard of medical care for patients with ulcerative colitis (in the provision of specialized care	URL: <a href="https://docs.cntd.ru/document/902048232">https://docs.cntd.ru/document/902048232</a> (31.05.2022)
11	Рациональное применение бактериофагов в лечебной и противозидемической практике / Федеральные клинические рекомендации. Москва: 2014. 39 с. [Rational use of bacteriophages in medical and anti-epidemic practice. Federal clinical guidelines. Moscow, 2014. 39 p. (In Russ.)]	Rational use of bacteriophages in medical and anti-epidemic practice. Federal clinical guidelines. Moscow, 2014. 39 p.	URL: <a href="http://en.nasci.ru/?id=3378&amp;download=1">http://en.nasci.ru/?id=3378&amp;download=1</a>
12	Biran D., Sura T., Otto A. & Yair Y., Becher D., Ron, E. Surviving serum – the E. coli iss gene (increased serum survival) of extraintestinal pathogenic E. coli (ExPEC) is required for the synthesis of group 4 capsule. Infection and Immunity,	-	[doi: 10.1128/IAI.00316-21]

STRAIN E. COLI ONT:H30 18-726

	2021, vol. 89, no. 10: e00316-21. doi: 10.1128/IAI.00316-21		
13	Bolocan A.S., Callanan J., Forde A., Ross P., Hill C. Phage therapy targeting <i>Escherichia coli</i> -a story with no end? <i>FEMS Microbiol Lett.</i> 2016, vol. 363, no. 22: fnw256. doi: 10.1093/femsle/fnw256	-	[doi: 10.1093/femsle/fnw256]
14	Butler D.A., Rana A.P., Krapp F., Patel S.R., Huang Y., Ozer E.A., Hauser A.R., Bulman Z.P. Optimizing aminoglycoside selection for KPC-producing <i>Klebsiella pneumoniae</i> with the aminoglycoside-modifying enzyme (AME) gene <i>aac(6')-Ib</i> . <i>Journal of Antimicrobial Chemotherapy.</i> 2021, vol. 76, no. 3: 671–679. doi: 10.1093/jac/dkaa480	-	[doi: 10.1093/jac/dkaa480]
15	Costa R.F.A., Ferrari M.L.A., Bringer M.A., Darfeuille-Michaud A., Martins F.S., Barnich N. Characterization of mucosa-associated <i>Escherichia coli</i> strains isolated from Crohn’s disease patients in Brazil. <i>BMC Microbiol.</i> 2020, 20: 178. doi: 10.1186/s12866-020-01856-x	-	[doi: 10.1186/s12866-020-01856-x]
16	Desvaux M., Dalmaso G., Beyrouthy R., Barnich N., Delmas J., Bonnet R. Pathogenicity Factors of Genomic Islands in Intestinal and Extraintestinal <i>Escherichia</i>	-	[doi: 10.3389/fmicb.2020.02065]

## STRAIN E. COLI ONT:H30 18-726

	coli. <i>Front. Microbiol.</i> 2020, vol. 25, no. 11:2065. doi: 10.3389/fmicb.2020.02065.		
17	Huang D.B., Nataro J.P., DuPont H.L., Kamat P.P., Mhatre A.D., Okhuysen P.C., Chiang T. Enterοaggregative <i>Escherichia coli</i> is a cause of acute diarrheal illness: a meta-analysis. <i>Clin Infect Dis.</i> 2006, vol. 43, no. 5: 556-63. doi: 10.1086/505869.	-	[doi: 10.1086/505869]
18	Iablokov S.N, Klimenko N.S., Efimova D.A., Shashkova T., Novichkov P.S., Rodionov D.A., Tyakht A.V. Metabolic Phenotypes as Potential Biomarkers for Linking Gut Microbiome With Inflammatory Bowel Diseases. <i>Front. Mol. Biosci.</i> 2021, no. 7: 603740. doi: 10.3389/fmolb.2020.603740	-	[doi: 10.3389/fmolb.2020.603740]
19	Jenkins C. Enterοaggregative <i>Escherichia coli</i> . In: Frankel, G., Ron, E. (eds) <i>Escherichia coli, a Versatile Pathogen. Current Topics in Microbiology and Immunology.</i> 2018, vol. 416: 27-50. doi: 10.1007/82_2018_105	-	[doi: 10.1007/82_2018_105]
20	Jensen B.H., Olsen K.E., Struve C., Krogfelt K.A., Petersen A.M. Epidemiology and clinical manifestations of enterοaggregative <i>Escherichia coli</i> . <i>Clin Microbiol Rev.</i> 2014,	-	[doi: 10.1128/CMR.00112-13]

## STRAIN E. COLI ONT:H30 18-726

	vol. 27, no. 3: 614-30. doi: 10.1128/CMR.00112-13.		
21	Moraes C., Longo J., Silva L.B., Pimenta D.C., Carvalho E., Morone M.S., da Rós N., Serrano S.M.T., Santos A.C.M., Piazza R.M.F., Barbosa A.S., Elias W.P. Surface Protein Dispersin of Enteroaggregative Escherichia coli Binds Plasminogen That Is Converted Into Active Plasmin. <i>Front. Microbiol.</i> 2020, no. 11:1222. doi: 10.3389/fmicb.2020.01222	-	[doi: 10.3389/fmicb.2020.01222]
22	Morin N., Santiago A., Ernst R., Guillot S., Nataro J. Characterization of the AggR Regulon in Enteroaggregative E. coli. <i>Infection and immunity.</i> 2012, vol. 81, no. 10: 122-132. doi: 10.1128/IAI.00676-12	-	[doi: 10.1128/IAI.00676-12]
23	Mousavifar L., Roy R. Recent development in the design of small 'drug-like' and nanoscale glycomimetics against Escherichia coli infections. <i>Drug Discovery Today.</i> 2021, vol. 26, no. 9: 2124-2137. doi: 10.1080/19490976.2020.1847976	-	[doi: 10.1080/19490976.2020.1847976]
24	Nuesch-Inderbinen M.T., Hofer E., Hächler H., Beutin L., Stephan R. Characteristics of enteroaggregative Escherichia coli isolated from healthy carriers and from patients with diarrhoea. <i>J Med Microbiol.</i> 2013, vol. 62,	-	[doi: 10.1099/jmm.0.065177-0]

## STRAIN E. COLI ONT:H30 18-726

	no. 12: 1828-1834. doi: 10.1099/jmm.0.065177-0		
25	Prieto A., Bernabeu M., Sánchez-Herrero J.F., Pérez-Bosque A., Miró L., Bäuerl C., Collado C., Hüttener M., Juárez A. Modulation of AggR levels reveals features of virulence regulation in enteroaggregative <i>E. coli</i> . <i>Communications Biology</i> . 2021, vol. 4, no. 1: 1295. doi: 10.1038/s42003-021-02820-9	-	[doi: 10.1038/s42003-021-02820-9]
26	Shaler C.R., Elhenawy W., Coombes B.K. The unique lifestyle of Crohn's disease-associated adherent-invasive <i>Escherichia coli</i> . <i>J. Mol. Biol.</i> 2019, vol. 431, no. 16: 2970-2981. doi: 10.1016/j.jmb.2019.04.023	-	[doi: 10.1016/j.jmb.2019.04.023]
27	Tyakht A.V., Kostryukova E.S., Popenko A.S., Belenikin M.S., Pavlenko A.V., Larin A.K., Karpova I.Y., Selezneva O.V., Semashko T.A., Ospanova E.A., Babenko V.V., Maev I.V., Cheremushkin S.V., Kucheryavyy Y.A., Shcherbakov P.L., Grinevich V.B., Efimov O.I., Sas E.I., Abdulkhakov R.A., Abdulkhakov S.R., Lyalyukova E.A., Livzan M.A., Vlassov V.V., Sagdeev R.Z., Tsukanov V.V., Osipenko M.F., Kozlova I.V., Tkachev A.V., Sergienko V.I., Alexeev D.G.,	-	[doi: 10.1038/ncomms3469]

## STRAIN E. COLI ONT:H30 18-726

	Govorun V.M. Human gut microbiota community structures in urban and rural populations in Russia. Nat Commun. 2013, no. 4: 2469. doi: 10.1038/ncomms3469.		
28	Zhang S.L., Wang S.N., Miao C.Y. Influence of microbiota on intestinal immune system in ulcerative colitis and its intervention. Front. Immunol. 2017, no. 8: 1674. doi: 10.3389/fimmu.2017.01674.	-	[doi: 10.3389/fimmu.2017.01674]