

УДК 619.617

ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ДИФФЕРЕНЦИАЦИЯ *SHIGELLA/EIEC* ОТ *E. COLI*

Мягкова В.В., магистрант 2 курса факультета ветеринарной медицины и биотехнологии
Научные руководители: Молофеева Н.И., кандидат биологических наук, доцент;
Мерчина С.В., кандидат биологических наук, доцент
ФГБОУ ВО Ульяновский ГАУ

Ключевые слова: *Shigella* spp., *E. coli*, экспрессию генов, генетическая дифференциация, *b*-глюкуронидазы

В статье представлен литературный обзор по дифференциации *Shigella* spp. и *E. coli*, по секвенированию генов, в связи с трудностями с дифференцировкой *EIEC-Shigella*, поскольку обе они проявляют сходные биохимические признаки и могут вызывать дизентерию, используя один и тот же способ инвазии.

Шигеллез вызывает воспалительные реакции и изъязвления на эпителии кишечника с последующей кровавой или слизистой диареей. Он вызывается энтероинвазивной кишечной палочкой (*EIEC*), а также любыми видами рода *Shigella*, а именно *S. dysenteriae*, *S. flexneri*, *S. boydii* и *S. sonnei*. Это современное видовое обозначение шигеллы не указывает на генетическое сходство. *Shigella* spp. может быть легко дифференцирована от *E. coli*, но наблюдаются трудности с дифференцировкой *EIEC-Shigella*, поскольку обе они проявляют сходные биохимические признаки и могут вызывать дизентерию, используя один и тот же способ инвазии. Секвенирование нескольких генов домашнего хозяйства указывает на то, что Шигелла в нескольких различных случаях производилась путем приобретения переносимых форм предковых плазмид вирулентности внутри комменсальной кишечной палочки и образует патогенный штамм Шигелла-ЭИЕК. *EIEC* показал более низкую экспрессию генов вирулентности по сравнению с *Shigella*, следовательно, *EIEC* вызывают менее тяжелое заболевание, чем *Shigella* spp. Традиционные микробиологические методы часто приводят к запутанным результатам, касающимся дискриминации между *EIEC* и *Shigella* spp. Ген лактозной пермеазы (*lacY*) присутствует во всех *E. coli* штаммы кишечной палочки, но отсутствуют в *Shigella* spp.,

тогда как ген β -глюкуронидазы (*uidA*) присутствует как в *E. coli*, так и в *Shigella* spp. Таким образом, дуплексный ПЦР-анализ на основе генов *uidA* и *lacY* может быть использован для легкой идентификации и дифференцировки *Shigella* spp. от *E. coli* и, в частности, EIEC [3].

Вышеописанные характеристики позволяют предположить, что *Shigella*/EIEC может быть генетически дифференцирована от типичной *E. coli* путем таргетирования маркерных генов. Но разработать быстрый, чувствительный и надежный молекулярный метод идентификации и дифференциации между EIEC и *Shigella* spp. очень сложно из-за их близкого биохимического сходства. До сих пор было описано мало молекулярных методов идентификации представителей патогена *Shigella*-EIEC от других типичных кишечных палочек. Кроме того, ранее сообщалось, что ПЦР – анализ, нацеленный на *is630*-зонды, ген *virF*, ген *iraN* и область *IS1*, мультиплексная ПЦР и одноплексная ПЦР в реальном времени обнаруживают наличие или отсутствие *Shigella*/EIEC. Совсем недавно Ojha et al. разработали пентаплексную ПЦР, которая способна обнаруживать и дифференцировать *Shigella* spp. К сожалению, этот метод также не способен дифференцировать EIEC от *Shigella* spp [5].

Ферментация лактозы является биохимическим признаком *E. coli*, который широко используется для ее обнаружения традиционными методами культивирования. Ген *lacY*, ген, кодирующий лактозную пермеазу, присутствует у различных представителей семейства *Enterobacteriaceae*, таких как *E. coli*, *Enterobacter cloacae*, *Citrobacter freundii* или *Kluyvera ascorbata*, в то время как ген β -глюкуронидазы (*uidA*), кодирующий фермент бета-глюкуронидазы, присутствует у *E. coli* и *Shigella* spp. Сообщалось, что ген *lacY* является предполагаемым генетическим маркером дифференцировки *Shigella* spp. от *E. coli*. Ученые разработали обычную мультиплексную ПЦР, которая, казалось, хорошо работала для дифференцировки шигелл от *E. coli*, но не для дифференцировки EIEC-*Shigella*. Кроме того, эта обычная ПЦР не смогла дифференцировать EIEC от *Shigella* из-за наличия сходных по размеру неспецифических ампликонов для *Shigella* spp. В результате Павлович М. и др. разработан простой, быстрый, надежный и специфичный зондовый дуплексный ПЦР-анализ в реальном времени, специфичный для генов *uidA* и *lacY*, чтобы минимизировать риск обнаружения неспецифических мишеней. Они успешно дифференцировали девяносто шесть изолятов, включая 11 изолятов EIEC

различных серотипов и по крайней мере три представителя каждого вида шигелл. Все испытанные шигеллы и кишечная палочка, включая изоляты EIEC, были положительными на ген uidA. Кроме того, все E. изоляты кишечной палочки оказались положительными на ген Лейси, в то время как ни один из протестированных изолятов шигеллы не содержал ген Лейси. Даже перекрестно реагирующие серотипы EIEC (O112ac, O124 и O152) были четко дифференцированы от Shigella как EIEC с помощью дуплексной ПЦР в реальном времени. Селективность Лейси-в виде дуплексной ПЦР в реальном времени составила 100% [1, 2].

Штаммы ETEC могут продуцировать один или два типа энтеротоксина. Эти энтеротоксины делятся на теплолюбивые токсины (ЛТ) и теплостойкие токсины (СТ). Были идентифицированы два типа ЛТ, называемые ЛТ типа I (LT_I) и ЛТ типа II (LT_{II}). Эти токсины не связаны иммунологически: оба типа могут быть далее разделены на подтипы (LT_{Ih}: человеческое происхождение и LT_{Ip}: свиное происхождение), которые антигенно связаны. Последовательности ДНК этих подтипов очень гомологичны. ST можно разделить на два иммунологически не связанных типа-ST типа I (ST_I или ST_A) и ST типа II (ST_{II} или ST_B). Для ИППП из кишечной палочки человеческого происхождения были выделены два различных, но высоко гомологичных аллеля, кодирующих подтип H ИППП (ST_{Ih}), - estA2 и estA3/4. Другой аллель, estA1, кодирующий ST_{Ip}, был выделен из штамма бычьей кишечной палочки. Анализ последовательности ДНК показал, что estA1 примерно на 70% гомологичен аллелям estA2 и estA [3, 4].

Библиографический список:

1. Элли Е.А. Ветеринарно – санитарная экспертиза молока/ Е.А.Элли, И.Р. Кудряшов, Н.И.Молофеева, С.В.Мерчина //СТУДЕНЧЕСКИЙ НАУЧНЫЙ ФОРУМ - 2017. IX Международная студенческая электронная научная конференция.- 2017.
2. Молофеева Н.И.Проблема диагностики Escherihia coli O157:H7/ Н.И. Молофеева// Технологические и экологические основы земледелия и животноводства в условиях лесостепи Поволжья: материалы Всероссийской научно-практической конференции «Молодые ученые -агропромышленному комплексу.-Ульяновск.-2001.- С. 79-80.
3. Молофеева Н.И. Изучение биологических свойств бактериофагов Escherichia coli O157 при хранении/ Н.И.Молофеева, Д.А. Васильев,

- С.В.Мерчина //Аграрная наука и образование на современном этапе развития: опыт, проблемы и пути их решения. материалы VIII международной научно-практической конференции.-Ульяновск.- 2017. -С. 222-225.
4. Васильев Д.А. Бактериофаги зооантропонозных и фитопатогенных бактерий / Д.А. Васильев, С.Н. Золотухин и др..-Ульяновск. - 2017.
 5. Рыскалиева Б.Ж. Изучение тинкториальных, культуральных и биохимических свойств полученных штаммов бактерии *Pectobacterium carotovorum* / Б.Ж. Рыскалиева, Е.А. Ляшенко и др. //В сборнике: Аграрная наука и образование на современном этапе развития: Опыт, проблемы и пути их решения. Материалы IX Международной научно-практической конференции, посвященной 75-летию Ульяновского государственного аграрного университета имени П.А. Столыпина. 2018. С. 116-119.

GENETIC DIFFERENTIATION OF SHIGELLA/EIEC FROM E. COLI

Myagkova V. V

Key words: *Shigella spp., E. coli, gene expression, genetic differentiation, b-glucuronidases.*

The article presents a literature review on the differentiation of Shigella spp. and E. coli, on gene sequencing, due to the difficulties with the differentiation of EIEC-Shigella, since both of them exhibit similar biochemical signs and can cause dysentery using the same method of invasion.