

**МЕТОДЫ МОЛЕКУЛЯРНОГО ТИПИРОВАНИЯ ШТАММОВ
*SHIGELLA***

**Житарь К.Д., студентка 2 курса факультета ветеринарной
медицины и биотехнологии**

**Научный руководитель – Феокистова Н.А., к.б.н., доцент
ФГБОУ Ульяновский ГАУ**

Ключевые слова: *Shigella spp.*, генотипирование, анализ, геном, ДНК

В данной статье рассмотрена информация о методах молекулярно-генетического типирования шигелл. Было замечено, что для типирования Shigella spp. лучше использовать один общий или несколько дополнительных методов типирования.

Шигеллезы являются нешуточной медицинской проблемой для всего мира. В нашей стране шигеллез лидирует по заболеваемости острыми кишечными инфекциями. Сам возбудитель шигеллеза был найден в 1896 г. микробиологом К. Shiga. Данный микроорганизм относят к роду *Shigella*, к трибе *Escherichia* в семействе *Enterobacteriaceae*, так как шигеллы генетически близки к группе энтероинвазивных эшерихий. Род *Shigella* состоит из 4 серогрупп: *S. boydii*, *S. dysenteriae*, *S. flexner* и *S. sonnei*. Разница в биохимических свойствах и структуре лежит в разделении шигелл на виды и серотипы. Определения вида и серотипа патогена для анализа вспышек инфекционной болезни будет недостаточно. А использование лишь фенотипических методов типирования не поможет связать отдельные бактериальные штаммы в видовые и внутривидовые группы шигелл. Молекулярно-генетическое типирование отлично помогает решить вопрос внутривидовой дискриминации, изолятов шигелл, подвергает рассмотрению эволюционные связи и популяцию патогена. Для этого существуют некоторые методы генотипирования. Например, исследователями используется метод разбора полиморфизма длин амплифицированных фрагментов (AFLP) в основе которого идет рестрикция генома микроорганизма с последующим

лигированием к концам фрагментов ДНК коротких комплементарных адапторов, включающих в себя мишени для специфичных ПЦР-праймеров. Установлена значительная дискриминирующая способность AFLP для видовой и внутривидовой дифференциации штаммов шигелл, превосшедшая дискриминирующую способность типирования по плазмидным профилям [1].

В ходе исследований по полногеномному секвенированию микроорганизмов, было открыто наличие повторов ДНК в большом числе бактериальных геномов. Вместе с этим появился метод, позволяющий определить число tandemных повторов на локус с помощью праймеров. Это мультилокусный анализ, в результате которого устанавливается генотип микроорганизма и определяется его филогенетическая принадлежность. У *S. flexneri* нашли 36 локусов, а у *S. sonnei* обнаружили 26 локусов с коротким размером повторяющейся единицы и различным степенью вариабельности. Мультилокусное типирование секвенированием (MLST) сформировано на секвенировании генов, присутствующих у представителей вида и представленных разнообразными аллелями в штаммах внутри одного вида. Данные, полученные при MLST-типировании, анализируют, чтобы проследить эволюционные связи в популяции и объединить в группы по общности происхождения. Мультилокусное типирование секвенированием – действенный метод, дающий необходимые данные о происхождении шигелл. Но метод неприемлем для генотипирования большого числа изолятов из-за высокой трудоемкости и стоимости секвенирования [2].

Существует метод SNP-типирования, способный подвергать анализу вариабельность одиночных нуклеотидов отдельных локусов бактериального генома. Секвенирование и пиросеквенирование, анализ кривых плавления высокого разрешения, и др. применяют для определения полиморфизма единичных нуклеотидов в локусах генома. А.Е. Nayford и другие соавторы применили 24 идентифицированных SNP для дифференциации 118 штаммов всех четырех серотипов и нашли 26 SNP-генотипов. Нельзя не упомянуть о типировании с помощью полного секвенирования генома – это технологии нового, или 2-ого поколения – дают большую возможность для качественного разбора генома патогенов, помогают дифференцировать штаммы, неразличимые при использовании иных типизирующих методов. Быстро развивается ДНК-

секвенирование 3-его поколения, особенность которого – это отсутствие ошибок и потеря нужды в первичной амплификации ДНК. Благодаря этому, на данный момент в информационной базе NCBI GenBank размещены полные геномы штаммов, представляющих все 4 вида из рода *Shigella* [3].

Таким образом, разница между штаммами, замечаемая при применении одного метода, не всегда удостоверяются другим методом, для типирования *Shigella spp.* разумно применять один общий или несколько дополнительных методов типирования, что даст возможность получить достоверные данные [4].

Библиографический список:

1. Multilocus sequence typing analysis of *Shigella flexneri* isolates collected in Asian countries / S.Y. Choi, Y.S. Jeon., J.H. Lee, B. Choi, S.H. Moon, L. von Seidlein et al. // J. Med. Microbiol. – 2007. - № 56. – P. 1460-1466.
2. Diagnostic methods of metabolism gene polymorfism of human lipids. / E.Yu. Ditkina, E.S. Vashukova, A.S. Glotov, T.E. Ivashchenko // Izvestiya Sankt-Peterburgskogo gosudarstvennogo tekhnolog-icheskogo instituta (tekhnicheskogo universiteta). – 2012. - № 15. – P. 68-74.
3. DNA sequencing using electrical conductance measurements of a DNA polymerase / Y.S. Chen, C.H. Lee, M.Y. Hung, H.A. Pan, J.C. Chiou, G.S. Huang // Nature Nanotechnol. – 2013. - № 8 (6). – P. 452-458.
4. Экспресс-метод индикации эпидемических штаммов шигелл / Е.В. Сперанская, В.В. Мефодьев, Л.Б. Козлов // Современные проблемы науки и образования. – 2009. – № 1. - URL: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=826> (дата обращения: 29.04.2022).

METHODS OF MOLECULAR TYPING OF SHIGELLA STRAINS.

Zhitar K.D.

Keywords: *Shigella spp.*, genotyping, analysis, genome, DNA.

This article discusses information about the methods of molecular genetic typing of Shigella, their disadvantages and advantages. It has been observed that for typing Shigella spp. it is better to use one main or several additional typing methods.