

# Эпидемиология, свойства и лабораторная диагностика шига-токсин-продуцирующих *Escherichia coli*

Н.Н.Карцев, Э.А.Светоч

ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии», Оболенск, Московская область, Российская Федерация

Пищевые инфекции, вызываемые шига-токсин-продуцирующими штаммами *E. coli* (STEC), – актуальная проблема общественного здравоохранения многих стран мира, включая высокоразвитые: США, Канаду, страны Европейского Союза, Японию и др. Начиная с 1990-х гг. заболевания, обусловленные STEC-штаммами, регистрируют и в Российской Федерации. STEC-штаммы часто вызывают обычную водянистую диарею, которая, как правило, заканчивается выздоровлением в течение нескольких дней, реже — тяжелые формы болезни – геморрагическую диарею (геморрагический колит, ГК) и ассоциированный с ней гемолитико-уремический синдром (ГУС). Наибольшую опасность, особенно для детей младшего возраста и пожилых людей, представляет ГУС, при котором у больного развиваются острая почечная недостаточность, тромбоцитопения и гемолитическая анемия. Смертность среди пациентов с ГУС может достигать 5% и более; у 10–50% пациентов, перенесших ГУС, в течение длительного периода имеют место осложнения в виде хронической почечной недостаточности, диабета, невралгических нарушений и других патологий. Эффективных методов лечения STEC-инфекций до настоящего времени не предложено; применение антибиотиков не рекомендуется, поскольку их применение повышает риск возникновения ГУС у детей и пожилых пациентов. Лечение инфекции в основном симптоматическое и предполагает введение больному жидкостей и электролитов, гемодиализ.

**Ключевые слова:** шига-токсин-продуцирующие *E. coli*, геморрагический колит, гемолитико-уремический синдром

**Для цитирования:** Карцев Н.Н., Светоч Э.А. Эпидемиология, свойства и лабораторная диагностика шига-токсин продуцирующих *Escherichia coli*. Бактериология. 2018; 3(1): 7–12. DOI: 10.20953/2500-1027-2018-1-7-12

## Epidemiology, properties and laboratory diagnostics of *E.coli*-Producing shiga-toxins

N.N.Kartsev, E.A.Svetoch

State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology, Obolensk, Moscow Region, Russian Federation

The foodborne infections caused by shiga toxin produced by *E. coli* strains (STEC) are an urgent public health problem in many countries of the world, including highly developed ones: the USA, Canada, the European Union, Japan, etc. Since the 1990s, STEC-strains are also recorded in the Russian Federation. STEC-strains often cause normal watery diarrhea, which usually ends in a recovery within a few days, less often severe forms of the disease-hemorrhagic diarrhea (hemorrhagic colitis, HA) and associated hemolytic-uremic syndrome (HUS). The greatest danger, especially for young children and the elderly, is the HUS, in which the patient develops acute renal failure, thrombocytopenia and hemolytic anemia. Mortality among patients with HUS can reach 5% or more; in 10–50% of patients undergoing HUS, complications in the form of chronic kidney failure, diabetes, neuralgic disorders and other pathologies have been occurring for a long time. Effective treatments for STEC infections have not been proposed to date; the use of antibiotics is not recommended, since their use increases the risk of HUS in children and elderly patients. Treatment of the infection is mainly symptomatic and involves the administration of fluid to the patient and electrolytes, hemodialysis.

**Keywords:** shiga-toxin producing *E. coli*, hemorrhagic colitis, hemolytic-uremic syndrome

**For citation:** Kartsev N.N., Svetoch E.A. Epidemiology, properties and laboratory diagnostics of *E.coli*-Producing shiga-toxins. Bacteriology. 2018; 3(1): 7–12. (In Russian). DOI: 10.20953/2500-1027-2018-1-7-12

### Для корреспонденции:

Карцев Николай Николаевич, научный сотрудник лаборатории антимикробных препаратов отдела молекулярной микробиологии ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора

Адрес: 142279, Московская область, Серпуховский р-н, п. Оболенск, ФБУН ГНЦ ПМБ

Телефон: (4967) 36-0079

E-mail: kartsev@obolensk.org

Статья поступила 18.01.2018 г., принята к печати 30.03.2018 г.

### For correspondence:

Nikolay N. Kartsev, researcher of antimicrobial agents laboratory, molecular microbiology department, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology of the Federal Service for Surveillance in the Sphere of Consumers Rights Protection and Human Welfare

Address: SRCAMB 142279 Obolensk, Serpukhov district, Moscow region, Russian Federation

Phone: (4967) 36-0079

E-mail: kartsev@obolensk.org

The article was received 18.01.2018, accepted for publication 30.03.2018

### Энтерогеморрагические *E. coli* – ЕНЕС

Энтерогеморрагические *E. coli* вызывают значительную заболеваемость и смертность во всем мире. Для группы ЕНЕС характерно наличие в их геномах определенного набора генов патогенности: *rfb*, *eae*, *stx1*, *stx2*, *ehx*, контролирующих соответственно синтез специфических липополисахаридов, основного антигена адгезии – интимина, шига-токсинов 2-го и/или 1-го типов, энтерогемоллизина. Наиболее частым возбудителем геморрагического колита (ГК) и гемолитико-уремического синдрома (ГУС) является энтерогеморрагическая *E. coli* серотипа O157:H7, однако к данной патогруппе могут принадлежать и *E. coli* многих других серогрупп, основными среди которых являются серогруппы O26, O45, O55, O91, O103, O104, O111, O113, O121, и O145 [1]. В последние годы эпидемиологическая значимость указанных выше серогрупп *E. coli* в возникновении пищевых инфекций постоянно возрастает, особенно это касается ЕНЕС серогруппы O26 [2]. Тем не менее, серотип *E. coli* O157:H7 остается ведущим возбудителем тяжелых форм ГК и ГУС и основной причиной летальных исходов, причем число тяжелых форм болезни и число госпитализаций больных при *E. coli* O157:H7 инфекции увеличиваются. Эту тенденцию исследователи связывают с повышением вирулентности возбудителя, причины которого остаются неясными [3].

### Шига-токсин-продуцирующие *E. coli*, не относящиеся к ЕНЕС

Наиболее ярким представителем неэнтерогеморрагических эшерихий является штамм *E. coli* O104:H4, вызвавший вспышку в Европе в 2011 г. По имеющимся в литературе данным, случаи выделения энтероагрегативных шига-токсин-продуцирующих (Ag-STEC) штаммов *E. coli* серотипа O104:H4 начали регистрировать с 2001 г. До 2009 г. было зарегистрировано 5 спорадических случаев выявления Ag-STEC O104:H4 от больных с ГК и ГУС в Германии, Франции, Норвегии и Италии [4]. В 2009 г. были зарегистрированы 25 случаев ГУС в Грузии. Среди заболевших 52% составляли дети младше 15 лет, 68% – женщины. Семь человек умерли, среди них двое детей в возрасте до 15 лет. Во время вспышки были выделены два штамма *E. coli* серотипа O104:H4 2009EL-2050 и 2009EL-2071, в которых были определены гены *stx2a*, *aggR* и *aatA*. Оба штамма были устойчивы к ампициллину, стрептомицину, сульфизоксазолу и триметоприму/сульфометоксазолу. Один из них также был устойчив к триметоприму.

Вспышка ГУС в сентябре 2011 г. охватила несколько европейских государств. Штаммы Ag-STEC *E. coli* O104:H4 были выделены от французских туристов, вернувшихся после отдыха из Турции (8 случаев), и от больных с ГУС и ГК во Франции, Дании, Люксембурге и Германии. Все эти случаи связывают с путешествиями в Турцию и Северную часть Африки [4].

Спорадические случаи выделения Ag-STEC *E. coli* O104:H4 от больных с ГУС описаны в Бельгии в 2013 г. – от 42-летней женщины, вернувшейся после отдыха в Тунисе, и от 14-летней девочки спустя неделю после отдыха в Турции. Оба штамма несли основные гены вирулентности STEC и EAgEC, идентичные «германским» штаммам, а именно *stx2a*, *aggR* и *aatC*.

В настоящее время достоверно не определен естественный резервуар энтероагрегативных шига-токсин-продуцирующих *E. coli* серотипа O104:H4. Несколькими группами исследователей выдвинуто предположение, что в качестве резервуара данной инфекции может рассматриваться человек и что занос данной инфекции в развитые страны может осуществляться путешественниками и мигрантами из эндемичных по данному возбудителю стран [5].

### Факторы вирулентности ЕНЕС

Штаммы ЕНЕС участвуют в развитии патогенеза ГК и ГУС с помощью различных механизмов, таких как адгезия, индукция провоспалительных изменений и повреждения эпителиальных и эндотелиальных клеток, токсинообразование [6]. Во многом набор факторов вирулентности ЕНЕС схож с таковым у энтеропатогенных *E. coli*, но, несмотря на то, что данные патотипы генетически связаны между собой, многие особенности их эпидемиологии, развития патогенеза и ниш, которые они занимают в организме человека, уникальны. Так, инфицирующая доза ЕПЕС составляет от  $10^8$  до  $10^{10}$  КОЕ для взрослого человека, в то время как инфицирующая доза ЕНЕС намного меньше и, по некоторым оценкам, составляет менее 100 КОЕ [7].

**Интимин** – белок внешней мембраны клеток ЕНЕС с молекулярной массой 92–94 кДа. Интимин является основным адгезином ЕНЕС, обеспечивающим тесный контакт (через Tir рецептор) клетки патогена с энтероцитом, что является ключевым в процессе развития феномена A/E (attaching and effacing) – прилипания и сглаживания энтероцитов энтерогеморрагическими эшерихиями. Гены *eae*, контролирующие синтез интимина, локализованы на острове патогенности LEE. В настоящее время насчитывается более 17 типов интимина, у которых отмечаются высокая гомология N-терминального конца и большие различия в C-терминальном регионе, который существенен для связывания с рецептором Tir у штаммов, вызывающих ГК и ГУС. У STEC штаммов, патогенных для человека, как правило, присутствует интимин-гамма [8].

**Белки третьего типа секреции (TTSS)** играют важную роль в патогенезе как ЕПЕС, так и ЕНЕС. Эти возбудители используют систему секреции типа III для прикрепления бактерий на энтероциты и секреции нескольких инъекционных токсинов Esp (*E. coli* secreted protein), кодируемых LEE локусом. Секреция белков Esp необходима для трансдукции сигнала в клетках хозяина и формирования A/E-повреждений [9]. EspA образует филамент, связывающий бактерию с клеткой-мишенью; EspF способствует созданию тесной связи между бактерией и клеткой-мишенью; EspB и EspD нарушают функционирование мембранных сигнальных систем и формируют поры в клеточной мембране, через которые инъецируется молекула белка Tir, где она фосфорилируется, образуя рецептор для интимина. В настоящее время известно по меньшей мере 39 белков TTSS, кодируемых LEE локусом у штаммов ЕНЕС, которые секретируются в цитоплазму энтероцитов [10].

**ЕНЕС плаزمиды pO157** несет на себе гены, кодирующие белки, вовлеченные в патогенез ЕНЕС-инфекции: гемолизин HlyA; сериновую протеазу EspP, участвующую в расщеплении фактора коагуляции V в сыворотке крови человека;

белок ToxB с молекулярной массой 362 кДа, схожий по своей аминокислотной последовательности с кластридиальными токсинами; каталазу и цинк-металлопротеиназу StcE, которая секретируется системой секреции *etp* типа II, расщепляет ингибитор C1 эстеразы (C1-INH) системы компонента, обладает муциназной активностью и, как предполагают, участвует в колонизации и повреждении эпителия тонкого кишечника [11]. Кроме того, данная плаزمид несет ряд других важных генов вирулентности, таких как *katP* (периплазматическая пероксидаза каталазы), *toxВ* (гомолог белка, способствующего адгезии) и *subAB1* (субтилазоподобная сериновая протеаза – токсин) [12].

Изучение продукции цитотоксинов *E. coli* параллельно несколькими группами исследователей привело к использованию двух разных названий токсинов – вероцитотоксины (VT) и шигаподобные токсины (Shiga-like toxins, SLT), которые с 1994 г. считаются взаимозаменяемыми. В настоящее время более широко используемой аббревиатурой шига-токсина является Stx. Штаммы STEC имеют два типа токсинов: шига-токсин типа 1 (Stx1), идентичный токсину *Shigella dysenteriae* типа 1, и иммунологически отличный от Stx1 шига-токсин типа 2 (Stx2) [13].

Шига-токсины кодируются опероном, имеющим следующую структуру: ген субъединицы *stxA* располагается непосредственно перед геном субъединицы *stxB* с короткой межгенной последовательностью. Белок токсина состоит из пяти В-субъединиц и одной субъединицы А, образующих голотоксин. Ферментативная активность (N-гликозидаза) обеспечивается сродством фермента к специфическим гликолипидным рецепторам энтероцита. Биологические свойства Stx включают в себя энтеротоксичность, нейротоксичность и цитотоксичность. По различиям биологической активности и нуклеотидного состава генов шига-токсина подразделяют на типы и подтипы. Перечисленные различия шига-токсинов являются клинически значимыми, что проявляется в способности одних подтипов вызывать заболевания с более мягким течением, а других – серьезные осложнения, такие как ГУС [14].

Систематизация шигатоксинов была предложена на VII Международном симпозиуме по VTEC инфекции, состоявшемся в 2009 г, принята в окончательном виде на 8-м симпозиуме VTEC в Амстердаме в 2012 г. [15]. Номенклатура шига-токсинов представляет собой трехуровневую систему обозначения: тип, подтип и вариант.

Тип указывает на принадлежность к одной из двух основных ветвей семейства шига-токсинов, которые имеют общую структуру и функцию, но не нейтрализуются гетерологичными антителами к Stx/Stx1 и Stx2. Для обозначения шига-токсинов *E. coli* и других бактерий, а также их генов используют арабские цифры после «Stx» или «stx».

Подтипы представляют собой группы шига-токсинов, схожих по своей антигенной структуре и нуклеотидной последовательности генов. Для обозначения подтипов используют суффиксы со строчными буквами латинского алфавита: Stx1a, Stx1c, Stx1d, Stx2a Stx2g. Очевидно, что согласованная номенклатура и стратегии субтипирования шига-токсинов необходимы для улучшения эпиднадзора и прогнозирования рисков, связанных с конкретными инфекциями STEC [15].

Под вариантом шига-токсина подразумевают конкретные подтипспецифические прототипические токсины или родственные токсины в подтипе (которые отличаются одной или более аминокислотами от прототипа). Обозначение вариантов включает в себя тип и подтип токсина, а также O-группу, если штаммом-хозяином является *E. coli* (Stx1a-O157-EDL933, Stx2c-O157-E32511), или название других бактерий, из которых выделен токсин (Stx2a-Acinetobacter-haemolyticus-DS9B). Таким образом, название варианта токсина включает O-серотип, название штамма, а также название микроорганизма, в котором впервые был обнаружен данный токсин.

На основе предложенной классификации разработан метод субтипирования генов шига-токсинов с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР), который был независимо протестирован на панели из 48 референс-штаммов STEC и усовершенствован в шести клинических и исследовательских центрах для проверки воспроизводимости, чувствительности и специфичности протокола ПЦР [15].

**ЕНЕС-гемолизин** (Hly, Ehx) является одним из важных вспомогательных факторов вирулентности ЕНЕС, поскольку он участвует в развитии патогенеза с помощью таких механизмов, как адгезия, индукция провоспалительных изменений и повреждения эпителиальных и эндотелиальных клеток [6]. Энтерогемолизин принадлежит к семейству токсинов RTX (repeat in toxin), вызывающих гемолиз эритроцитов теплокровных животных. Кодируется опероном ЕНЕС-hly ABCD, расположенным на большой плазмиде вирулентности ЕНЕС рО157. Важно отметить, что ЕНЕС-hlyA всегда присутствует на плаزمиде рО157 у типичных сорбитол-отрицательных *E. coli* O157:H7 [8].

### Лабораторная диагностика STEC

В качестве скрининговых методов диагностики возбудителей STEC-инфекции широко используются иммунохроматографические тесты и реакция латексной агглютинации, которые дают ответ в течение нескольких минут без применения какой-либо аппаратуры. В реакции латекс-агглютинации выявляют соматический и жгутиковый антигены *E. coli*, что позволяет дифференцировать *E. coli* серотипа O157:H7 от других серотипов. Высокая специфичность данных тестов дает основание для идентификации, но отрицательный результат нуждается в подтверждении традиционным комплексом лабораторных исследований – первичного посева проб клинического материала и пищевых продуктов на среды обогащения: лактозный бульон с бриллиантовым зеленым и желчью, среды с новобиоцином, акрифлавином и цефиксимом (для выделения *E. coli* серогруппы O157) [16], среды с ванкомицином и теллуридом калия (для выделения *E. coli* серогруппы O111), среды с новобиоцином и комплексом ванкомицина, теллурита калия и цефиксима (для выделения *E. coli* серогруппы O26) [17].

Для селективного выделения *E. coli* основных серогрупп, ассоциированных со STEC-инфекцией (O26, O45, O103, O104, O111, O121, O145 и O157), также разработан метод иммуномагнитной сепарации, который позволяет концентрировать *E. coli* с антигенами данных серогрупп из клинических образцов, воды и продуктов питания. Целесообразность такого подхода диктуется низким титром штаммов ЕНЕС во многих тестируемых пробах. Использование иммуномагнит-

ной сепарации позволяет существенно повысить чувствительность бактериологического метода и ПЦР-детекции, что послужило основанием для внедрения этого метода в ГОСТ 32011-2013 (ISO 16654:2001) «Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Горизонтальный метод обнаружения *Escherichia coli* O157».

Разработаны селективные питательные среды, позволяющие дифференцировать *E. coli* серогруппы O157 по неспособности ферментировать сорбит и/или рамнозу и отсутствию фермента бета-глюкуронидазы [18]. Дифференциально-диагностические среды используют также для выявления штаммов, продуцирующих энтерогемолизины (90% штаммов ЕНЕС). Применение хромогенных сред основано на выявлении активности ферментов  $\beta$ -D-глюкуронидазы/ $\beta$ -D-галактозидазы, что ускоряет идентификацию изолятов ЕНЕС и позволяет различить штаммы в зависимости от наличия упомянутых ферментов по цвету [19]. К сожалению, хромогенные среды не обладают достаточной чувствительностью и специфичностью для обнаружения STEC, чтобы заменить прямые методы детекции шига-токсинов. Данные среды служат для облегчения процесса выделения штаммов STEC из образцов, в которых наличие шига-токсинов предварительно было определено с использованием более чувствительных методов, таких как иммунохроматография или ПЦР [20].

Определение серотипа изучаемых штаммов ЕНЕС производят с помощью реакций агглютинации и латекс-агглютинации, иммунохроматографического и иммуноферментного тестов, а также молекулярно-генетическими методами [21]. Иммунологические методы имеют ряд недостатков, таких как трудоемкость выполнения и большое количество перекрестных реакций. В последнее десятилетие в мировой практике наиболее достоверными способами определения основных серогрупп энтерогеморрагических *E. coli* считаются молекулярно-генетические методы, а именно ПЦР с электрофоретической или гибридационно-флюоресцентной детекцией [22]. Молекулярно-генетический метод основан на том, что у *E. coli* гены ферментов «домашнего хозяйства», участвующих в синтезе О-антигена, располагаются в О-кластере (известном как *rfb*-кластер). Количество генов в кластере варьирует у штаммов разных серогрупп. На данных различиях основан молекулярный метод серотипирования *E. coli* с помощью ПЦР, который позволяет различить О-группы по размеру и нуклеотидной последовательности амплифицируемого участка О-кластера [23].

В настоящее время в странах Европейского союза разработаны и внедрены в практику протоколы детекции основных серогрупп энтерогеморрагических *E. coli* в образцах пищевой продукции (мясной фарш, салаты, пророщенные семена) с помощью ПЦР с гибридационно-флюоресцентной детекцией. Данные методы позволяют с большой точностью и в короткие сроки определить наличие или отсутствие в образце штаммов STEC одной из основных серогрупп: O26, O45, O55, O91, O103, O104, O111, O113, O121, O145 и O157 [24].

Помимо классической ПЦР и ПЦР с детекцией в режиме реального времени, для идентификации различных серогрупп *E. coli* на сегодняшний день разрабатывают и применяют ДНК-биочипы. Данная технология позволяет за один анализ протестировать образец ДНК на наличие в нем

более 30 серогрупп-ассоциированных генов и, как следствие, сократить трудоемкость и время анализа [25]. Однако данная технология достаточно редко используется в практике из-за своей высокой стоимости.

Завершающими этапами лабораторной диагностики являются детекция у изучаемых штаммов генов, кодирующих шига-токсины, а также выявление продукции шига-токсинов. Сложность интерпретации получаемых результатов исследований заключается в том, что у ЕНЕС проявляется нестабильность экспрессии генов шига-токсинов, а также в том, что способность образовывать шига-токсины свойственна некоторым другим бактериям – *Shigella spp.*, *Campylobacter spp.*, *Citrobacter spp.*, *Pseudomonas spp.* и *Edwardsiella spp.* [26].

### Лечение и профилактика эшерихиозов

В настоящее время отсутствует единый подход к терапии эшерихиозов, в частности, у детей. Однако проведенные в последние годы отечественными клиницистами исследования показали эффективность стартовой терапии антибактериальными препаратами и энтеросорбентами в комплексе с пероральной регидратацией. Учитывая тот факт, что сложность назначения оптимальной этиотропной терапии, важным моментом которой является выбор антибактериального препарата, связана с постоянной изменчивостью чувствительности эшерихий к применяемым антибиотикам и ростом числа антибиотикорезистентных штаммов, рекомендуется применять антибактериальные препараты, показавшие свою клиническую эффективность. Проведенные исследования показали, что такими препаратами выбора при осложненном течении эшерихиозов у детей являются нифуроксазид и налидиксовая кислота. В этом же исследовании был установлен высокий клинический эффект назначения энтеросорбентов, таких как диоктаэдрический смектит и полиметилосилан полигидрат в сочетании с пероральной регидратацией в стартовой терапии неосложненных эшерихиозов в возрастных дозах курсом 3–5 дней [27].

Оптимальные методы лечения STEC-инфекций в настоящее время отсутствуют. Применение антибиотиков вызывает лизис клеток STEC в кишечнике человека, а следовательно, и дополнительный выброс шига-токсинов в кровеносную систему и усугубление патологических процессов у больного. Кроме того, антибиотики могут индуцировать переход фага из неактивной фазы (профага) в активную (литическую), что также способствует накоплению шига-токсинов в организме больного. В настоящее время при лечении ГУС назначают поддерживающую терапию, основанную на введении больному жидкостей и электролитов, а также гемодиализе [1]. К способам профилактики ГУС относят соблюдение правил личной гигиены (частое мытье рук, исключение купания в загрязненных водоемах), качественную кулинарную обработку пищевых, особенно мясных продуктов, уменьшение фекального загрязнения мяса во время или после убоя животных [28].

### Перспективы разработки профилактических препаратов против ЕТЕС и STEC инфекций, на основе факторов вирулентности их возбудителей

К настоящему времени разработаны несколько типов вакцин против STEC-инфекции: корпускулярные убитые

(бактерины), которые, как показали испытания, не защищали сельскохозяйственных животных от колонизации клетками *E. coli* O157:H7 [29]; живые векторные вакцины, сконструированные на основе аттенуированных сальмонелл, несущих гены протективности антигенов ЕНЕС (интимин и белки 3 типа секреции), которые эффективно защищали экспериментальных животных от заражения их клетками ЕНЕС [30]; субъединичные вакцины, при конструировании которых использовали генно-инженерные двух- или трехкомпонентные слитные белки, состоящие из белков антигена адгезии – интимина и белков 3 типа секреции – EspA, EspB, Tir, а также белков детоксицированных А- и В-субъединиц шига-токсинов [31]; субъединичные вакцины с пориновыми белками и белками рецепторов сидерофоров – две коммерческие вакцины, эффективно защищающие крупный рогатый скот от носительства *E. coli* O157:H7, стимулирующие у вакцинированных лабораторных животных антитоксический и мукозальный антиколонизационный иммунитет [32]; липополисахаридная вакцина, которая при ее испытании на взрослых волонтерах и детях вызывала у вакцинированных образование антител IgG и IgM в высоких титрах. В течение длительного времени сыворотки крови пациентов обладали высокой бактерицидной активностью в отношении клеток *E. coli* O157:H7 [33].

Для эффективной защиты от штаммов STEC в перспективе необходима вакцина, которая защищала бы человека не только от *E. coli* O157:H7 и *E. coli* O104:H4, но и от шига-токсин-продуцирующих штаммов других серологических групп, в том числе не относящихся к энтерогеморрагическому патотипу (не-ЕНЕС), поскольку удельный вес последних в патологии ГК и ГУС постоянно возрастает.

### Заключение

Непростая эпидемиологическая ситуация по STEC-инфекциям, отмечаемая во многих странах, осложняется отсутствием на сегодняшний день в клинической практике эффективных методов лечения ГК и ГУС, поскольку этиотропная химиотерапия в данном случае противопоказана, она лишь увеличивает риски появления ГУС у больных ГК и утяжеляет течение болезни. Лечение ГК и ГУС остается пока только симптоматическим. Специфические средства профилактики и лечения отсутствуют.

Изучение STEC методами молекулярной биологии и эпидемиологии позволило выявить их основные факторы вирулентности, ассоциированные с основными клиническими проявлениями данных инфекций: различные типы токсинов, факторов адгезии и колонизации. В настоящее время описаны определенные генетические линии и эпидемические клоны данных возбудителей, характерные для разных регионов мира.

В Российской Федерации начиная с 1990-х гг. проводятся исследования, посвященные изучению STEC-штаммов, клинико-эпидемиологическим особенностям и вопросам дифференциальной диагностики инфекций, вызванных данным патотипом эшерихий, а также разработке новых подходов к этиотропной терапии этой группы заболеваний. Однако изучению молекулярно-генетических свойств диареогенных эшерихий уделялось сравнительно мало внимания. В связи с этим актуальным представляется проведение исследова-

ний по молекулярно-генетической характеристике выделенных в Российской Федерации штаммов STEC, направленных на изучение генов вирулентности, антибиотикорезистентности, определение их серогрупп и сиквенс-типов штаммов, с целью изучения молекулярно-эпидемиологической ситуации. Кроме того, в последние годы выявляются гибридные патотипы диареогенных эшерихий – энтероаггративные геморрагические *E. coli* (EAHEC) и шига-токсин-продуцирующие энтеротоксигенные *E. coli* (STEC/ETEC).

Подробное изучение молекулярно-генетических характеристик патогенных эшерихий определяет возможность новых диагностических и профилактических средств. Наличие универсальной схемы идентификации и субтипирования шига-токсинов имеет важное значение для выявления ассоциаций между подтипами токсина и конкретными клиническими случаями заболевания, а также для оценки риска заражения STEC-инфекцией от сельскохозяйственных животных.

В связи с этим углубленное изучение и всесторонняя микробиологическая и молекулярно-генетическая характеристика патогенных *E. coli*, выделяемых на территории Российской Федерации, является весьма актуальным и важным научным направлением, необходимым для разработки новых методических подходов к их диагностике и лечению, а также для совершенствования эпидемиологического контроля за данными возбудителями.

### Литература/References

1. Karch, H Tarr PI, Bielaszewska M. Enterohaemorrhagic *Escherichia coli* in human medicine. Int J Med Microbiol. 2005 Oct;295(6-7):405-18. DOI: 10.1016/j.ijmm.2005.06.009
2. Germinario C, Caprioli A, Giordano M, Chironna M, Gallone MS, Tafuri S, et al. Community-wide outbreak of haemolytic uraemic syndrome associated with Shiga toxin 2-producing *Escherichia coli* O26:H11 in southern Italy, summer 2013. Euro Surveill. 2016 Sep 22;21(38). DOI: 10.2807/1560-7917.ES.2016.21.38.30343
3. Brooks JT, Sowers EG, Wells JG, Greene KD, Griffin PM, Hoekstra RM, Strockbine NA. Non-O157 Shiga toxin-producing *Escherichia coli* infections in the United States, 1983–2002. J Infect Dis. 2005 Oct 15;192(8):1422-9. DOI: 10.1086/466536
4. De Rauw K, Vincken S, Garabedian L, Levchenko E, Hubloue I, Verhaegen J, et al. Enteroaggregative Shiga toxin-producing *Escherichia coli* of serotype O104:H4 in Belgium and Luxembourg. New Microbes New Infect. 2014 Sep;2(5):138-43. DOI: 10.1002/nmi2.58
5. EFSA/ECDC. Shiga toxin/verotoxin-producing *Escherichia coli* in humans, food and animals in the EU/EEA, with special reference to the German outbreak strain STEC O104. Technical Report of EFSA/ECDC. Available at: [http://ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/1106\\_TER\\_EColi\\_joint\\_EFSA.pdf](http://ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/1106_TER_EColi_joint_EFSA.pdf).
6. Bielaszewska M, Schiller R, Lammers L, Bauwens A, Fruth A, Middendorf B, et al. Heteropathogenic virulence and phylogeny reveal phased pathogenic metamorphosis in *Escherichia coli* O2:H6. EMBO Mol Med. 2014 Mar;6(3):347-57. DOI: 10.1002/emmm.201303133
7. Griffin MG, Miner PB Jr. Conventional drug therapy in inflammatory bowel disease. Gastroenterol Clin North Am. 1995 Sep;24(3):509-21.
8. Kaper JB, Nataro JP, Molby HL. Pathogenic *Escherichia coli*. Nat Rev Microbiol. 2004 Feb;2(2):123-40. DOI: 10.1038/nrmicro818
9. Campellone KG, Robbins D, Leong JM. EspFU is a translocated EHEC effector that interacts with Tir and N-WASP and promotes Nck-independent actin assembly. Dev Cell. 2004 Aug;7(2):217-28. DOI: 10.1016/j.devcel.2004.07.004

10. Tobe T, Beatson SA, Taniguchi H, Abe H, Bailey CM, Fivian A, et al. An extensive repertoire of type III secretion effectors in *Escherichia coli* O157 and the role of lambdoid phages in their dissemination. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2006 Oct 3;103(40):14941-6. DOI: 10.1073/pnas.0604891103
11. Grys TE, Siegel MB, Lathem WW, Welch RA. The StcE protease contributes to intimate adherence of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 to host cells. *Infect Immun*. 2005 Mar;73(3):1295-303. DOI: 10.1128/IAI.73.3.1295-1303.2005
12. Michelacci V, Tozzoli R, Caprioli A, Martínez R, Scheutz F, Grande L, et al. A new pathogenicity island carrying an allelic variant of the Subtilase cytotoxin is common among Shiga toxin producing *Escherichia coli* of human and ovine origin. *Clin Microbiol Infect*. 2013 Mar;19(3):E149-56. DOI: 10.1111/1469-0691.12122.
13. Konowalchuk J, Speirs JI, Stavric S. Vero response to a cytotoxin of *Escherichia coli*. *Infect Immun*. 1977 Dec;18(3):775-9.
14. Persson S, Olsen KE, Ethelberg S, Scheutz F. Subtyping method for *Escherichia coli* Shiga toxin (verocytotoxin) 2 variants and correlations to clinical manifestations. *J Clin Microbiol*. 2007 Jun;45(6):2020-4. DOI: 10.1128/JCM.02591-06
15. Scheutz F, Teel LD, Beutin L, Piérard D, Buvens G, Karch H, et al. Multicenter evaluation of a sequence-based protocol for subtyping Shiga toxins and standardizing Stx nomenclature. *J Clin Microbiol*. 2012 Sep;50(9):2951-63. DOI: 10.1128/JCM.00860-12
16. МУК 4.2.992-00 Методы выделения и идентификации энтерогеморрагической кишечной палочки *E. coli* O157:H7: Методические указания. М.: Федеральный центр Госсанэпиднадзора Минздрава России, 2001, 21 с. / МООК 4.2.992-00 methods for isolation and identification of enterohemorrhagic *E. coli* O157:H7: Guidelines. Moscow: Federal center of Gossanepidnadzor of the Ministry of health of Russia, 2001, 21 p. (In Russian).
17. O'Sullivan J, Bolton DJ, Duffy G, et al. Methods for Detection and Molecular Characterization of Pathogenic *Escherichia coli* / Pathogenic *E. coli* Network Coordination action food-ct-2006-036256. AFRC, 2007.
18. Gouali M, Ruckly C, Carle I, Lejay-Collin M, Weill FX. Evaluation of CHROMagar STEC and STEC O104 chromogenic agar media for detection of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in stool specimens. *J Clin Microbiol*. 2013 Mar; 51(3):894-900. DOI: 10.1128/JCM.03121-12
19. Bettelheim KA. Studies of *Escherichia coli* cultured on Rainbow Agar O157 with particular reference to enterohaemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC). *Microbiol Immunol*. 1998;42(4):265-9.
20. Zelyas N, Poon A, Patterson-Fortin L, Johnson RP, Lee W, Chui L. Assessment of commercial chromogenic solid media for the detection of non-O157 Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC). *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2016 Jul;85(3): 302-308. DOI: 10.1016/j.diagmicrobio.2016.03.013
21. Karch H, Bielaszewska M, Bitzan M, Schmidt H. Epidemiology and diagnosis of Shiga toxin-producing *E. coli* infections. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 1999 Jul;34(3):229-43.
22. Perelle S, Dilasser F, Grout J, Fach P. Detection by 5'-nuclease PCR of Shiga-toxin producing *Escherichia coli* O26, O55, O91, O103, O111, O113, O145 and O157:H7, associated with the world's most frequent clinical cases. *Mol Cell Probes*. 2004 Jun;18(3):185-92. DOI: 10.1016/j.mcp.2003.12.004
23. Wang Q, Ruan X, Wei D, Hu Z, Wu L, Yu T, Feng L, Wang L. Development of a serogroup-specific multiplex PCR assay to detect a set of *Escherichia coli* serogroups based on the identification of their O-antigen geneclusters. *Mol Cell Probes*. 2010 Oct;24(5):286-90. DOI: 10.1016/j.mcp.2010.06.002
24. EU-RL VTEC\_Method\_02\_Rev\_0. Identification and characterization of Verocytotoxin-producing *Escherichia coli* (VTEC) by Real Time PCR amplification of the main virulence genes and the genes associated with the serogroups mainly associated with severe human infections. Режим доступа: [http://www.iss.it/binary/vtec/cont/EU\\_RL\\_VTEC\\_Method\\_02\\_Rev\\_0.pdf](http://www.iss.it/binary/vtec/cont/EU_RL_VTEC_Method_02_Rev_0.pdf)
25. Liu J, Gratz J, Maro A, Kumburu H, Kibiki G, Taniuchi M, et al. Simultaneous detection of six diarrhea-causing bacterial pathogens with an in-house PCR-luminex assay. *J Clin Microbiol*. 2012 Jan;50(1):98-103. DOI: 10.1128/JCM.05416-11.
26. Bielaszewska M, Friedrich AW, Aldick T, Schürk-Bulgrin R, Karch H. Shiga toxin activatable by intestinal mucus in *Escherichia coli* isolated from humans: predictor for a severe clinical outcome. *Clin Infect Dis*. 2006 Nov 1;43(9):1160-7. DOI: 10.1086/508195
27. Горелов АВ, Бондарева АВ. Стартовая терапия эшерихиозов у детей. Лечение и профилактика. 2016;4(20):69-73. / Gorelov AV, Bondareva AV. The starting therapy of colibacillosis in children. *Disease Treatment and Prevention*. 2016;4(20):69-73. (In Russian).
28. Кафтырева ЛА, Егорова СА, Макарова МА, Забровская АВ, Сужаева ЛВ, Артамонова ЮА. Вспышки острой кишечной инфекции, вызванные *Escherichia coli* O104:H4, зарегистрированные в странах Европы, и биологические особенности возбудителя. Вестник Санкт-Петербургского университета. 2011;11(4):119-126. / Kafytyreva LA, Egorova SA, Makarova MA, Zabrovskaya AV, Suzhayeva LV, Artamonova YA. Outbreaks of acute enteric infection, caused by *Escherichia coli* O104:H4, reported in the countries of Europe, and biological characteristics of this pathogen. *Vestnik Sankt-Peterburgskogo universiteta*. 2011;11(4):119-126. (In Russian).
29. Manning SD, Motiwala AS, Springman AC, Qi W, Lacher DW, Ouellette LM, et al. Variation in virulence among clades of *Escherichia coli* O157:H7 associated with disease outbreaks. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2008 Mar 25;105(12):4868-73. DOI: 10.1073/pnas.0710834105
30. Snedeker KG, Campbell M, Sargeant JM. A systematic review of vaccinations to reduce the shedding of *Escherichia coli* O157 in the faeces of domestic ruminants. *Zoonoses Public Health*. 2012 Mar;59(2):126-38. DOI: 10.1111/j.1863-2378.2011.01426.x
31. Smith DR, Moxley RA, Peterson RE, Klopfenstein TJ, Erickson GE, Bretschneider G, et al. A two-dose regimen of a vaccine against type III secreted proteins reduced *Escherichia coli* O157:H7 colonization of the terminal rectum in beef cattle in commercial feedlots. *Foodborne Pathog Dis*. 2009 Mar;6(2):155-61. DOI: 10.1089/fpd.2008.0136.
32. Smith MJ, Teel LD, Carvalho HM, Melton-Celsa AR, O'Brien AD. Development of a hybrid Shiga holotoxin vaccine to elicit heterologous protection against Shiga toxins types 1 and 2. *Vaccine*. 2006 May 8;24(19):4122-9. DOI: 10.1016/j.vaccine.2006.02.035
33. Konadu EY, Parke JC Jr, Tran HT, Bryla DA, Robbins JB, Szu SC. Investigational vaccine for *Escherichia coli* O157: phase 1 study of O157 O-specific polysaccharide-Pseudomonas aeruginosa recombinant exoprotein A conjugates in adults. *J Infect Dis*. 1998 Feb;177(2):383-7.

---

**Информация о соавторе:**

Светоч Эдуард Арсеньевич, доктор ветеринарных наук, профессор, главный научный сотрудник ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора  
 Адрес: 142279, п. Оболенск, Серпуховский район, Московская область  
 Телефон: (4967) 36-0079

---

**Information about co-author:**

Edward A. Svetoch, Dr. Sci. (Vet.), Professor, Chief research scientist, State Research Center for Applied Microbiology & Biotechnology  
 Address: SRCAMB 142279 Obolensk, Serpukhov district, Moscow region, Russian Federation  
 Phone: (4967) 36-0079