

# Использование веб-ресурса «Center for Genomic Epidemiology» для изучения генома STEC штамма *E. coli* серотипа O101:H33

Н.Н.Карцев, Ю.П.Скрябин, А.А.Кисличкина, А.Г.Богун, М.Е.Канашенко, Н.К.Фурсова, Э.А.Светоч

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

Гибридные (гетеропатогенные) штаммы диареогенных эшерихий, выделяемые от людей и животных, объединяют свойства разных патогрупп *E. coli*, что вызывает трудности в их диагностике и лечении. Такие штаммы представляют повышенную эпидемиологическую опасность, и их изучение является весьма актуальным. Онлайн-ресурс «Center for Genomic Epidemiology» (CGE) позволяет оценить патогенетическое и эпидемиологическое значение бактериальных патогенов, в том числе диареогенных эшерихий.

Анализ генома штамма *E. coli* 13573 O101:H33 с помощью сервиса Virulence Finder 1.5 онлайн-ресурса «Center for Genomic Epidemiology» позволил установить в нем наличие генетических детерминант, ответственных за продукцию факторов патогенности, таких как глутаматдекарбоксилаза, система секреции третьего типа, сериновая протеаза, фактор повышенной устойчивости к бактерицидному действию сыворотки крови, ауто транспортер сериновой протеазы энтеробактерий (SPATE), интимин, энтерогеомолизин, шига-токсин 2 типа, Non-LEE кодируемый эффектор В, а также термостабильный энтеротоксин *est1a*, что указывает на гибридную природу этого штамма (STEC/EPEC). У данного штамма определен сиквенс-тип – ST330.

Онлайн-ресурс CGE позволяет в короткие сроки определить факторы вирулентности и сиквенс-тип штамма, что может быть крайне важно при изучении вспышечных и спорадических случаев заболеваний эшерихиозами. Полученные данные свидетельствуют о большом генетическом разнообразии факторов патогенности у STEC-штаммов различных серотипов и позволяют глубже понять и объяснить связь генотипа патогена с его потенциальной опасностью для человека и его клинической значимостью для инфекционистов.

**Ключевые слова:** диареогенные *E. coli*, гибридные штаммы, идентификация, гены вирулентности

**Для цитирования:** Карцев Н.Н., Скрябин Ю.П., Кисличкина А.А., Богун А.Г., Канашенко М.Е., Фурсова Н.К., Светоч Э.А. Использование веб-ресурса «Center for Genomic Epidemiology» для изучения генома STEC штамма *E. coli* серотипа O101:H33. Бактериология. 2019; 4(1): 44–49. DOI: 10.20953/2500-1027-2019-1-44-49

## Use of the web-resource «Center for Genomic Epidemiology» for study of the STEC strain genome *Escherichia coli*

N.N.Kartsev, Yu.P.Skryabin, A.A.Kislichkina, A.G.Bogun, M.E.Kanashenko, N.K.Fursova, E.A.Svetoch

State Research Center for Applied Microbiology & Biotechnology, Obolensk, Russian Federation

Hybrid strains of DEC combine the properties of different pathogens of *E. coli*, which causes difficulties in their diagnosis and treatment, and also present an increased epidemiological hazard. A new method for conducting epidemiological studies of several relevant bacterial pathogens, including diarrhea, is the online resource Center for Genomic Epidemiology (CGE).

The analysis of the genome of *E. coli* strain 13573 serotype O101:H33 using VirulenceFinder 1.5 online resource Center for Genomic Epidemiology made it possible to establish in it the presence of genetic determinants responsible for the production of pathogenicity factors such as STEC: glutamate decarboxylase, secretion system third type, serine protease, a factor of increased resistance to the bactericidal action of blood serum, an autotransporter of serine protease enterobacteria (SPATE) of intimin, enterohemolysin, step type 2 toxin, and a non-LEE coded effector B and EPEC-gene thermostable enterotoxin *est1a*, indicating that the hybrid nature of this strain (STEC/EPEC). The sequence-type – ST330 of this strain was determined.

The CGE online resource allows the identification of virulence factors and the sequence-type of the strain under investigation, which can be extremely important in the study of outbreaks and sporadic cases of diseases with escherichiosis. The obtained data testify to the great genetic diversity of pathogenicity factors in STEC strains of various serotypes and allow deeper

### Для корреспонденции:

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

Адрес: 142279, Московская область, Серпуховский р-он, п. Оболенск, ФБУН ГНЦ ПМБ  
Телефон: (4967) 36-0003  
E-mail: kartsev@obolensk.org

Статья поступила 27.01.2019 г., принята к печати 25.03.2019 г.

### For correspondence:

Nikolay N. Kartsev, PhD (Medicine), researcher of the antimicrobial agents laboratory, department of molecular microbiology, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology

Address: SRCAMB 142279 Obolensk, Serpukhov district, Moscow region, Russian Federation  
Phone: (4967) 36-0003  
E-mail: kartsev@obolensk.org

The article was received 27.01.2019, accepted for publication 25.03.2019

understanding and explanation of the association of the pathogen genotype with its potential danger to humans and its clinical significance for infectionists.

**Keywords:** diarrheagenic *E. coli*, hybrid strains, identification, virulence genes

**For citation:** Kartsev N.N., Skryabin Yu.P., Kislichkina A.A., Bogun A.G., Kanashenko M.E., Fursova N.K., Svetoch E.A. Use of the web-resource «Center for Genomic Epidemiology» for study of the STEC strain genome *Escherichia coli*. *Bacteriology*. 2019; 4(1): 44–49. (In Russian). DOI: 10.20953/2500-1027-2019-1-44-49

**П**атогенные штаммы *Escherichia coli* можно разделить на две группы: диареогенные *E. coli* (DEC), вызывающие расстройства желудочно-кишечного тракта (ЖКТ), и *E. coli*, вызывающие внекишечные инфекции у человека и животных (ExPEC), включая сепсис, менингит и инфекцию мочевыводящих путей [1]. Группа DEC включает в себя семь основных патогрупп: энтеропатогенные *E. coli* (EPEC), энтеротоксигенные *E. coli* (ETEC), энтероинвазивные *E. coli* (EIEC), шига-токсин-продуцирующие *E. coli* (STEC), энтероагрегативные *E. coli* (EAgEC), диффузно-адгезивные *E. coli* (DAEC) и адгезивно-инвазивные *E. coli* (AIEC). Кроме того, в последние годы выявляются гибридные патотипы диареогенных эшерихий – энтероагрегативные геморрагические *E. coli* (EAHEC) и шига-токсин-продуцирующие энтеротоксигенные *E. coli* (STEC/ETEC), представляющие определенные трудности в диагностике и лечении инфекций, вызываемых такими штаммами [2, 3].

Как показывают события последних лет, гибридные штаммы DEC представляют повышенную эпидемиологическую опасность [4]. Наиболее ярким примером инфекции, вызванной гибридным DEC штаммом, явилась крупная вспышка острой кишечной инфекции (ОКИ) в Германии в 2011 г., обусловленная мультирезистентным EAHEC серотипа O104:H4, когда инфекцией были поражены более 4000 человек, из которых 54 умерли [5, 6]. В 2009 г. было зарегистрировано 25 случаев гемолитико-уремического синдрома (ГУС) в Грузии. Во время вспышки были выделены два штамма *E. coli* серотипа O104:H4, в которых были определены гены *stx2a*, характерные для EHEC, и гены *aggR* и *aatA*, обнаруживаемые у EAgEC. Оба штамма были устойчивы к ампициллину, стрептомицину, сульфизоксазолу и триметоприм/сульфометоксазолу. Один из них также был устойчив к триметоприму. В отличие от штаммов, выделенных в Германии в 2011 г., данные штаммы не обладали устойчивостью к цефалоспорином III поколения [7]. Спорадические случаи выделения EAHEC *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 *aaiC* [8]. В литературе описано также выделение штаммов *E. coli* гибридных патогрупп STEC/ETEC от жвачных животных (овцы, козы) в Бангладеш [9], а также от ребенка в Финляндии [3]. Представленные выше материалы свидетельствуют о важности индикации, идентификации и изучения гибридных штаммов для науки и клинической практики.

В последние годы наиболее популярным и востребованным методом изучения бактериальных патогенов является

их полногеномное секвенирование (whole genome sequencing, WGS), используемое как в обычной диагностической практике, так и при ретроспективных исследованиях вспышечных случаев инфекций. Новым ресурсом, позволяющим оценить потенциальную эпидемиологическую опасность ряда актуальных бактериальных патогенов, в том числе диареогенных эшерихий, является онлайн-ресурс «Center for Genomic Epidemiology» (CGE) ([www.genomicepidemiology.org](http://www.genomicepidemiology.org)) [10, 11].

Онлайн-ресурс CGE призван решить задачу извлечения максимального количества полезной информации из большого массива данных полногеномного секвенирования в сжатые сроки, что позволяет использовать эту информацию для нужд исследователей, эпидемиологов и клиницистов. Для достижения этой цели CGE предоставляет общедоступные и удобные в использовании веб-инструменты для оперативной обработки данных WGS и извлечения соответствующей информации: поиск, идентификация генетических детерминант антибиотикорезистентности – ResFinder, ResFinderFG, KmerResistance; предсказание патогенности бактерий для человека и идентификация генов вирулентности – PathogenFinder, VirulenceFinder, SPIFinder; выявление сайтов рестрикции-модификации – Restriction-ModificationFinder; генотипирование штаммов – MLST, PlasmidFinder, pMLST, KmerFinder, spaTyper, FimTyper, MyDbFinder, MyKmerFinder, DeHumanizer; идентификация штаммов – SpeciesFinder, Reads2Type, Tapir; серотипирование – SeroTypeFinder, SeqSero; филогенетический анализ – CSIPhylogeny, NDtree, snpTree; сборка генома – Velvet Assembly, SPAdes Assembly [12].

**Цели исследования** – идентификация генов вирулентности и определение сиквенс-типа у энтерогеморрагического штамма *E. coli* серотипа O101:H33 с помощью онлайн-ресурса «Center for Genomic Epidemiology» ([www.genomicepidemiology.org](http://www.genomicepidemiology.org)).

## Материалы и методы

Штамм *E. coli* 13573 серотипа O101:H33, депонированный в «ГКПМ-Оболensk» под номером В-7615, был выделен из сырого молока во время вспышки геморрагического колита (ГК) и ГУС летом 2013 г. в Санкт-Петербурге [13].

Полногеномное секвенирование штамма *E. coli* 13573 серотипа O101:H33 было осуществлено на платформе Illumina MiSeq с использованием наборов Nextera DNA Library Preparation Kit и MiSeq Reagent Kits v2 согласно рекомендациям производителя. Полученные единичные прочтения были собраны в контиги при помощи программы SPAdes 3.9.0. (<http://bioinf.spbau.ru/en/spades>). Выравни-

Таблица 1. Гены вирулентности штамма *E. coli* 13573 серотипа O101:H33

Фактор вирулентности	Идентичность, %	Образец/референс, п.н.	Функция белка	Референс-номер
<i>tir</i>	99,70	1650/1650	Транслоцирующий белок-рецептор интимина	AJ633130
<i>ehxA</i>	99,90	2997/2997	Энтерогемолизин	EF204923
<i>gad</i>	99,89	1401/935	Глутаматдекарбоксилаза	U00096
<i>est1a</i>	94,98	219/219	Термостабильный энтеротоксин ST-1a	AJ555214
<i>nleB</i>	100,00	990/990	Non-LEE кодируемый эффектор В	AF453441
<i>espA</i>	99,83	579/579	Система секреции III типа	AJ633130
<i>espF</i>	100,00	624/624	Система секреции III типа	AJ633130
<i>stx2B</i>	100,00	270/270	Шига-токсин 2, субъединица В, вариант а	AE005174
<i>espl</i>	100,00	4092/4092	Аутотранспорт сериновой протеазы энтеробактерий (SPATE)	AP010958
<i>espP</i>	98,05	3903/3903	Плазмидная внеклеточная сериновая протеаза	GQ259888
<i>iss</i>	97,96	294/294	Повышенная устойчивость к сыворотке крови	CP001509
<i>stx2A</i>	100,00	960/960	Шига-токсин 2, субъединица А, вариант а	AY143336
<i>eae</i>	93,14	2820/1808	Интимин	FM180568
Stx-голотоксины				
<i>stx2</i>	100,00	1241/1241	O157 SF-3573-98, вариант а	AB030484

вание последовательностей ДНК осуществляли с помощью программы Vector NTI Advance 11.5 (Invitrogen, США). Определение генетических детерминант вирулентности и «генов домашнего хозяйства» в сборке генома штамма *E. coli* 13573 осуществляли с помощью онлайн-сервисов VirulenceFinder 1.5 и MLST 1.8 (<https://cge.cbs.dtu.dk/services/>).

### Результаты и обсуждение

Анализ генома штамма *E. coli* 13573 O101:H33 с помощью сервиса VirulenceFinder 1.5 (<https://cge.cbs.dtu.dk/services/VirulenceFinder/>) онлайн-ресурса «Center for Genomic Epidemiology» позволил установить в нем наличие генетических детерминант, ответственных за продукцию факторов патогенности, таких как глутаматдекарбоксилаза, система секреции третьего типа, сериновая протеаза, фактор повышенной устойчивости к бактерицидному действию сыворотки крови, аутотранспорт сериновой протеазы энтеробактерий (SPATE) интимина, энтерогемолизина, шига-токсина 2 типа, а также Non-LEE кодируемый эффектор В (табл. 1).

Как следует из таблицы, в геноме штамма *E. coli* 13573 O101:H33 установлено присутствие генов *eae*, *stx2*, *ehxA*, характерных для EHEC, и гена *est1a*, характерного для

ETEC. Интересно, что ген *nleB* более характерен для типичных штаммов патогруппы EPEC (tEPEC) [14].

Необходимо отметить, что ген термостабильного энтеротоксина *est1a* в штамме *E. coli* 13573 является дефектным, так как по сравнению с референс-последовательностью гена *est1a* штамма *E. coli* EC2173 (GenBank AJ555214) он имеет делецию нуклеотида А в положении 147, приводящую к формированию стоп-кодона, а также 10 нуклеотидных замен C10T, T57C, T61A, C62A, A64G, C73G, G105C, G118A, C162T, C200T, приводящих к аминокислотным заменам: Ser21Lys, Tre22Ala, Leu25Val, Glu35Asp, Asp40Asn, Lys49Asn, Ser50Gln, Glu51Lys и Asn52Ile. Полностью идентичная структура гена *est1a* описана у гибридного штамма STEC/ETEC IH53473 серотипа O101:H33 в работе O.Nyholm и соавт., 2015 [3] (рисунок).

Таким образом, присутствие в геноме *E. coli* 13573 O101:H33 набора факторов вирулентности представителей двух патогрупп: STEC – генов *eae*, *stx2a*, *ehxA* и ETEC – гена *est1a* указывает на гибридную природу этого штамма. Происхождение подобных гибридных штаммов и их роль в патогенезе заболеваний, вызываемых ими, на сегодня до конца не выяснены.

Для дальнейшей характеристики штамма STEC 13573 был использован метод мультилокусного сиквенс-типирования (MLST). MLST-анализ штамма *E. coli* 13573 O101:H33 по схеме базы данных «MLST Databases at UoW» с использованием сервиса MLST 1.8 онлайн-ресурса CGE позволил отнести этот штамм к сиквенс-типу ST330 (ST комплекс 10). Следует отметить, что до нашего исследования сиквенс-тип ST330 был представлен в этой базе данных всего двумя штаммами: одним STEC-штаммом *E. coli* 3311 и одним гетеропатогенным UPEC-штаммом *E. coli* ABU 10084/97. Как и штамм *E. coli* серотипа O101:H33, исследованный нами, штамм ABU 10084/97 продуцировал шига-токсин типа 2 и интимин, но при этом являлся возбудителем инфекции мочевыводящих путей у человека [15]. Сиквенс-тип ST330 также был определен у гибридного штамма STEC/ETEC серотипа O101:H33 в работах O.Nyholm и соавт., 2015 [3].

В связи с вышеизложенным можно сделать предположение, что сиквенс-тип ST330, принадлежащий к ST-комплексу 10, является характерным для гибридных гетеропатогенных штаммов *E. coli*. Здесь же следует заметить, что к ST-комплексу 10 относятся штаммы ETEC серотипа O101:K30:K99

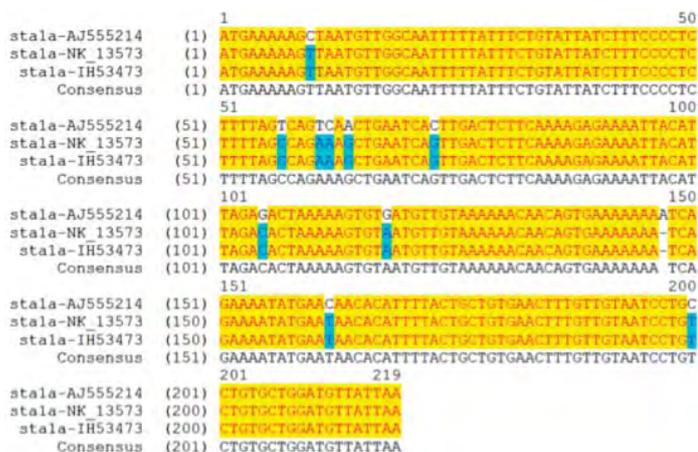


Рисунок. Выравнивание нуклеотидных последовательностей гена *est1a* штаммов *E. coli* EC2173, *E. coli* 13573 и *E. coli* IH53473.

Таблица 2. Характеристика штаммов *E. coli*, относящихся к сиквенс-типу ST330, серогруппе O101, серотипу O101:H33 либо с неопределенными серотипами, депонированных в базе данных MLST «Enterobase»

Штамм	Сиквенс-комплекс	Сиквенс-тип	Источник выделения	Год	Город	Страна	Патотип	Серотип/Серогруппа	Заболевание	Автор
B-7615/ NK_13573*	ST10 Cplx	330	Молоко	2013	Санкт-Петербург	Российская Федерация	ЕНЕС	O101:H33	Гемоколит	Н.Н.Карцев
B-7614/ NK_85-50*	ST10 Cplx	330	Фекалии	2013	Санкт-Петербург	Российская Федерация	ЕНЕС	O101:H33	Гемоколит	Н.Н.Карцев
ABU 10084/97	ST10 Cplx	330	Человек	НД	НД	Германия	УРЕС	НД	ABU	U.Dobrindt
3311	ST10 Cplx	330	Домашний скот	НД	НД	Англия	STEC	НД	НД	НД
490	ST10 Cplx	10	Корова	1984	Онтарио	Канада	ЕТЕС	O101:K30:K99	Диарея	C.Gyles
505	ST10 Cplx	10	Корова	1982	Онтарио	Канада	ЕТЕС	O101:K28:K99	Диарея	C.Gyles
M613	ST10 Cplx	10	Корова	1996	Онтарио	Канада	ЕТЕС	O101:K30:K99	Диарея	C.Gyles
H131720388	ST10 Cplx	10	Человек	2013	НД	Великобритания	ЕАЕС	O101:H5	Диарея	Chattaway
1116	ST10 Cplx	10	Человек	2007	НД	Бангладеш	ЕАЕС	H33	Диарея	Chattaway
IMT2105	НД	117	Домашняя птица	1999	НД	Германия	АРЕС	O101:K32:H-	Септицемия	L.Wieler, C.Ewers
2392-1	ST165 Cplx	382	Человек	НД	НД	Бразилия	ЕРЕС	O101:H33	Диарея	Gomes
Ecl1	НД	693	Человек	НД	НД	Индия	Unknown	O101	Инфекция МВП	НД
IMT14112	НД	744	Индейка	2007	НД	Германия	АРЕС	O101:Hn.t.	Колибациллез	НД
CG57	НД	762	Корова	1984	Онтарио	Канада	ЕТЕС	O101:K28:K99:NM	Диарея	C.Gyles
ED53	ST10 Cplx	10	Свинья	1993	НД	Италия	ЕНЕС	O101:H-	НД	H.Karch
KTE71	ST10 Cplx	330	Человек	2010	НД	Дания	НД	НД	НД	Broad Institute
PNUSAE003642	ST10 Cplx	330	НД	НД	НД	США	НД	НД	НД	CDC
207516	ST10 Cplx	330	Человек	2016	НД	Великобритания	НД	O101:H33	НД	Public Health England

НД – нет данных; \* – название штаммов в базах данных «MLST Databases at UoW» и «Enterobase».

(сиквенс-тип ST10), выделенные от телят в Канаде в 1982–1996 гг., а также штаммы ЕНЕС серотипа O101:H- и ЕАгЕС серотипа O101:H5, выделенные от свиней и человека в Италии и Великобритании соответственно (<http://mlst.warwick.ac.uk/mlst/dbs/Ecoli>) (табл. 2). На дату 03.05.2017 г. в базе данных «Enterobase» (<http://enterobase.warwick.ac.uk/species/index/ecoli>) аннотированы еще три штамма *E. coli* сиквенс-типа ST330, выделенные в Дании, США и Великобритании, последний из которых относится к серотипу O101:H33. Эти факты указывают на генетическую лабильность штаммов *E. coli* серогруппы O101, которая обеспечивает их принадлежность к различным патогруппам. Изучение генетических особенностей гетеропатогенных (гибридных) штаммов *E. coli*, их вирулентного потенциала и филогенетических связей позволяет, на наш взгляд, глубже понять эволюционные механизмы формирования патогенных биологических агентов и, возможно, предсказывать появление новых вариантов эшерихий, патогенных для человека и животных, а также своевременно разрабатывать средства их диагностики.

Полученные данные свидетельствуют о большом генетическом разнообразии факторов патогенности у STEC-штаммов различных серотипов и позволяют глубже понять и объяснить связь генотипа патогена с его потенциальной опасностью для человека и его клинической значимостью для инфекционистов. Обнаружение у больных геморрагическим колитом STEC-штаммов новых серо- и генотипов ука-

зывает на необходимость проведения более углубленных исследований этиологической структуры ГК, обращая более пристальное внимание на другие, не-O157 STEC-серогруппы, циркулирующие на территории РФ.

Онлайн-ресурс CGE позволяет в короткие сроки определить факторы вирулентности и сиквенс-тип изучаемого штамма, что может быть крайне важно при изучении вспышечных и спорадических случаев заболеваний эшерихиозами.

#### Финансирование

Работа выполнена в рамках отраслевой программы Роспотребнадзора.

#### Литература

1. Kaper JB, Nataro JP, Molby H.L. Pathogenic *Escherichia coli*. Nat Rev Microbiol. 2004 Feb;2(2):123-40. DOI: 10.1038/nrmicro818
2. Fratamico PM, DebRoy C, Needleman DS. Editorial: Emerging Approaches for Typing, Detection, Characterization, and Traceback of *Escherichia coli*. Front Microbiol. 2016 Dec 27;7:2089. DOI: 10.3389/fmicb.2016.02089
3. Nyholm O, Halkilahti J, Wiklund G, Okeke U, Paulin L, Auvinen P, Siitonen A. Comparative Genomics and Characterization of Hybrid Shigatoxigenic and Enterotoxigenic *Escherichia coli* (STEC/EPEC) Strains. PLoS One. 2015 Aug 27;10(8):e0135936. DOI: 10.1371/journal.pone.0135936
4. Karch H, Denamur E, Dobrindt U, Finlay BB, Hengge R, Johannes L, et al. The enemy within us: lessons from the 2011 European *Escherichia coli* O104:H4

- outbreak. *EMBO Mol Med.* 2012 Sep;4(9):841-8. DOI: 10.1002/emmm.201201662
5. 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):119-26.
  6. Soon JM, Seaman P, Baines RN. *Escherichia coli* O104:H4 outbreak from sprouted seeds. *Int J Hyg Environ Health.* 2013 Jun;216(3):346-54. DOI: 10.1016/j.ijheh.2012.07.005
  7. Chokoshvili O, Lomashvili K, Malakmadze N, Geleishvili M, Brant J, Imnadze P, et al. Rush Investigation of an outbreak of bloody diarrhea complicated with hemolytic uremic syndrome. *J Epidemiol Glob Health.* 2014 Dec;4(4):249-59. DOI: 10.1016/j.jegh.2014.03.004
  8. De Rauw K, Vincken S, Garabedian L, Levchenko E, Hubloue I, Verhaegen J, et al. Enterohemorrhagic 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/nmi.2.58
  9. Johura F-T, Parveen R, Islam A, Sadique A, Rahim MN, Monira S, et al. Occurrence of Hybrid *Escherichia coli* Strains Carrying Shiga Toxin and Heat-Stable Toxin in Livestock of Bangladesh. *Front Public Health.* 2017 Jan 9;4:287. DOI: 10.3389/fpubh.2016.00287
  10. Mellmann A, Harmsen D, Cummings CA, Zentz EB, Leopold SR, Rico A, et al. Prospective Genomic Characterization of the German Enterohemorrhagic *Escherichia coli* O104:H4 Outbreak by Rapid Next Generation Sequencing Technology. *PLoS One.* 2011;6(7):e22751. DOI: 10.1371/journal.pone.0022751
  11. Reuter S, Harrison TG, Köser CU, Ellington MJ, Smith GP, Parkhill J, et al. A pilot study of rapid whole-genome sequencing for the investigation of a Legionella outbreak. *BMJ Open.* 2013 Jan 9;3(1). pii: e002175. DOI: 10.1136/bmjopen-2012-002175.
  12. Joensen KG, Scheutz F, Lund O, Hasman H, Kaas RS, Nielsen EM, Aarestrup FM. Real-Time Whole-Genome Sequencing for Routine Typing, Surveillance, and Outbreak Detection of Verotoxigenic *Escherichia coli*. *J Clin Microbiol.* 2014 May;52(5):1501-10. DOI: 10.1128/JCM.03617-13
  13. Онищенко ГГ, Дятлов ИА, Светоч ЭА, Воложанцев НВ, Баннов ВА, Карцев НН, и др. Молекулярно-генетическая характеристика шига-токсин-продуцирующих *Escherichia coli*, выделенных при вспышке пищевой инфекции в Санкт-Петербурге в 2013 г. *Вестник ПамН.* 2015;70(1):70-81. DOI: 10.15690/vramn.v70i1.1234
  14. Salvador FA, Hernandez RT, Vieira MAM, Rockstroh AC, Gomes TAT. Distribution of non-LEE-encoded type 3 secretion system dependent effectors in enteropathogenic *Escherichia coli*. *Braz J Microbiol.* 2014 Oct 9;45(3):851-5. DOI: 10.1590/s1517-83822014000300014
  15. Toval F, Schiller R, Meisen I, Putze J, Kouzel IU, Zhang W, et al. Characterization of Urinary Tract Infection-Associated Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli*. *Infect Immun.* 2014 Nov;82(11):4631-42. DOI: 10.1128/IAI.01701-14
  - outbreak. *EMBO Mol Med.* 2012 Sep;4(9):841-8. DOI: 10.1002/emmm.201201662
  5. Kaftyreva LA, Egorova SA, Makarova MA, Zabrovskaya AV, Suzhayeva LV, Artamonova YuA. Outbreaks of acute enteric infection caused by *Escherichia coli* O104:H4, reported in European countries and biological characteristics of this pathogen. *Vestnik of Saint Petersburg University. Medicine.* 2011;11(4):119-26. (In Russian).
  6. Soon JM, Seaman P, Baines RN. *Escherichia coli* O104:H4 outbreak from sprouted seeds. *Int J Hyg Environ Health.* 2013 Jun;216(3):346-54. DOI: 10.1016/j.ijheh.2012.07.005
  7. Chokoshvili O, Lomashvili K, Malakmadze N, Geleishvili M, Brant J, Imnadze P, et al. Rush Investigation of an outbreak of bloody diarrhea complicated with hemolytic uremic syndrome. *J Epidemiol Glob Health.* 2014 Dec;4(4):249-59. DOI: 10.1016/j.jegh.2014.03.004
  8. De Rauw K, Vincken S, Garabedian L, Levchenko E, Hubloue I, Verhaegen J, et al. Enterohemorrhagic 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/nmi.2.58
  9. Johura F-T, Parveen R, Islam A, Sadique A, Rahim MN, Monira S, et al. Occurrence of Hybrid *Escherichia coli* Strains Carrying Shiga Toxin and Heat-Stable Toxin in Livestock of Bangladesh. *Front Public Health.* 2017 Jan 9;4:287. DOI: 10.3389/fpubh.2016.00287
  10. Mellmann A, Harmsen D, Cummings CA, Zentz EB, Leopold SR, Rico A, et al. Prospective Genomic Characterization of the German Enterohemorrhagic *Escherichia coli* O104:H4 Outbreak by Rapid Next Generation Sequencing Technology. *PLoS One.* 2011;6(7):e22751. DOI: 10.1371/journal.pone.0022751
  11. Reuter S, Harrison TG, Köser CU, Ellington MJ, Smith GP, Parkhill J, et al. A pilot study of rapid whole-genome sequencing for the investigation of a Legionella outbreak. *BMJ Open.* 2013 Jan 9;3(1). pii: e002175. DOI: 10.1136/bmjopen-2012-002175.
  12. Joensen KG, Scheutz F, Lund O, Hasman H, Kaas RS, Nielsen EM, Aarestrup FM. Real-Time Whole-Genome Sequencing for Routine Typing, Surveillance, and Outbreak Detection of Verotoxigenic *Escherichia coli*. *J Clin Microbiol.* 2014 May;52(5):1501-10. DOI: 10.1128/JCM.03617-13
  13. Onishchenko GG, Dyatlov IA, Svetoch EA, Volozhantsev NV, Bannov VA, Kartsev NN, et al. Molecular-genetic Characterization of Shiga-Toxin Producing *Escherichia coli* Isolated During a Food-Borne Outbreak in St. Petersburg in 2013. *Vestnik Rossiiskoi akademii meditsinskikh nauk (Annals of the Russian academy of medical sciences).* 2015;70(1):70-81. DOI: 10.15690/vramn.v70i1.1234 (In Russian).
  14. Salvador FA, Hernandez RT, Vieira MAM, Rockstroh AC, Gomes TAT. Distribution of non-LEE-encoded type 3 secretion system dependent effectors in enteropathogenic *Escherichia coli*. *Braz J Microbiol.* 2014 Oct 9;45(3):851-5. DOI: 10.1590/s1517-83822014000300014
  15. Toval F, Schiller R, Meisen I, Putze J, Kouzel IU, Zhang W, et al. Characterization of Urinary Tract Infection-Associated Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli*. *Infect Immun.* 2014 Nov;82(11):4631-42. DOI: 10.1128/IAI.01701-14

## References

1. Kaper JB, Nataro JP, Molby H.L. Pathogenic *Escherichia coli*. *Nat Rev Microbiol.* 2004 Feb;2(2):123-40. DOI: 10.1038/nrmicro818
2. Fratamico PM, DebRoy C, Needleman DS. Editorial: Emerging Approaches for Typing, Detection, Characterization, and Traceback of *Escherichia coli*. *Front Microbiol.* 2016 Dec 27;7:2089. DOI: 10.3389/fmicb.2016.02089
3. Nyholm O, Halkilahti J, Wiklund G, Okeke U, Paulin L, Auvinen P, Siitonen A. Comparative Genomics and Characterization of Hybrid Shigatoxigenic and Enterotoxigenic *Escherichia coli* (STEC/EPEC) Strains. *PLoS One.* 2015 Aug 27;10(8):e0135936. DOI: 10.1371/journal.pone.0135936
4. Karch H, Denamur E, Dobrindt U, Finlay BB, Hengge R, Johannes L, et al. The enemy within us: lessons from the 2011 European *Escherichia coli* O104:H4

## Информация о соавторах:

Скрябин Юрий Павлович, научный сотрудник лаборатории антимикробных препаратов отдела молекулярной микробиологии ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора  
 Адрес: 142279, Московская область, Серпуховский р-он, п. Оболенск, ФБУН ГНЦ ПМБ  
 Телефон: (4967) 36-0003  
 E-mail: skryabin@obolensk.org

Кисличкина Ангелина Александровна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник отдела коллекционных культур ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора  
 Адрес: 142279, Московская область, Серпуховский р-он, п. Оболенск, ФБУН ГНЦ ПМБ  
 Телефон: (4967) 36-0003

Богун Александр Геннадьевич, кандидат биологических наук, заведующий отделом коллекционных культур ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии Роспотребнадзора»  
Адрес: 142279, Московская область, Серпуховский р-он, п. Оболенск, ФБУН ГНЦ ПМБ  
Телефон: (4967) 36-0003

Канашенко Мария Евгеньевна, младший научный сотрудник лаборатории антимикробных препаратов отдела молекулярной микробиологии ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора  
Адрес: 142279, Московская область, Серпуховский р-он, п. Оболенск, ФБУН ГНЦ ПМБ  
Телефон: (4967) 36-0003

Фурсова Надежда Константиновна, кандидат биологических наук, заведующая лабораторией антимикробных препаратов отдела молекулярной микробиологии ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора  
Адрес: 142279, Московская область, Серпуховский р-он, п. Оболенск, ФБУН ГНЦ ПМБ  
Телефон: (4967) 36-0003  
E-mail: fursova@obolensk.org

Светоч Эдуард Арсеньевич, доктор ветеринарных наук, профессор, главный научный сотрудник лаборатории антимикробных препаратов отдела молекулярной микробиологии ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора  
Адрес: 142279, Московская область, Серпуховский р-он, п. Оболенск, ФБУН ГНЦ ПМБ  
Телефон: (4967) 36-0003  
E-mail: svetoch@obolensk.org

#### Information about co-authors:

Yuri P. Scryabin, researcher of the antimicrobial agents laboratory, department of molecular microbiology, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology  
Address: SRCAMB 142279 Obolensk, Serpukhov district, Moscow region, Russian Federation  
Phone: (4967) 36-0003  
E-mail: skryabin@obolensk.org

Angelina A. Kislichkina, PhD (Biology), senior researcher of the collection cultures department, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology  
Address: SRCAMB 142279 Obolensk, Serpukhov district, Moscow region, Russian Federation  
Phone: (4967) 36-0003

Aleksander G. Bogun, PhD (Biology), leading researcher of the collection cultures department, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology  
Address: SRCAMB 142279 Obolensk, Serpukhov district, Moscow region, Russian Federation  
Phone: (4967) 36-0000  
E-mail: bogun62@mail.ru

María E. Kanashenko, junior research of the antimicrobial agents laboratory, department of molecular microbiology, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology  
Address: SRCAMB 142279 Obolensk, Serpukhov district, Moscow region, Russian Federation  
Phone: (4967) 36-0003

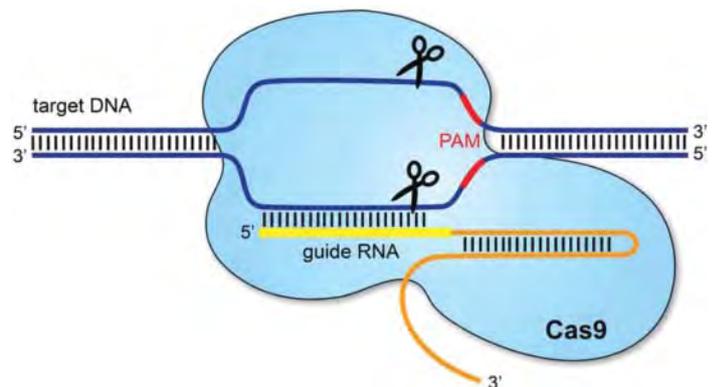
Nadezhda K. Fursova, PhD (Biology), leading researcher of antimicrobial agents laboratory, department of molecular microbiology, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology  
Address: SRCAMB, 142279 Obolensk, Serpukhov district, Moscow region, Russian Federation  
Phone: (4967) 36-0003  
E-mail: fursova@obolensk.org

Edward A. Svetoch, PhD, DSc (Veterinary), professor, Chief Researcher of antimicrobial agents laboratory, department of molecular microbiology, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology  
Address: SRCAMB, 142279 Obolensk, Serpukhov district, Moscow region, Russian Federation  
Phone: (4967) 36-0003  
E-mail: svetoch@obolensk.org

## Новые диагностические инструменты CRISPR-Cas

Открытие новых систем CRISPR-Cas обеспечило захватывающие возможности для инноваций за последние несколько лет. Продолжение исследований вновь открытых систем, несомненно, позволит обнаружить более полезные ферменты, которые могут быть использованы для улучшения чувствительности или стабильности современных диагностических инструментов. Тем не менее инструменты могут быть уже достаточно зрелыми для реализации и клинических испытаний. Возможность использования этих типов тестов для быстрой диагностики может оказать огромное влияние в местах оказания медицинской помощи, включая раннее обнаружение вирусных вспышек для обеспечения своевременного реагирования общественно-го здравоохранения.

Как и при редактировании генома, эти новые диагностические инструменты CRISPR-Cas готовы революционизировать доступность быстрой, чувствительной и точной диагностики инфекционных и генетических заболеваний для людей во всем мире.



Sashital D.G.  
*Pathogen detection in the CRISPR-Cas era.*  
*Genome Medicine. 2018;10(1):32.*