

Соловьёва А.В., младший научный сотрудник

РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелеского», г. Минск

ФАКТОРЫ ПАТОГЕННОСТИ ЭНТЕРОТОКСИГЕННОЙ *ESCHERICHIA COLI* (ОБЗОР)

Резюме

Энтеротоксигенная *Escherichia coli* является возбудителем колибактериоза животных и человека. В статье описаны главные факторы патогенности энтеротоксигенной *Escherichia coli* – фимбриальные адгезины и энтеротоксины.

Summary

Enterotoxigenic Escherichia coli is the causative agent of colibacillosis in animals and humans. The article describes the main factors of pathogenicity of enterotoxigenic *Escherichia coli* fimbrial adhesins and enterotoxins.

Поступила в редакцию 13.04.2018 г.

ВВЕДЕНИЕ

Энтеротоксигенные штаммы *Escherichia coli* (ЕТЕС) являются возбудителями колибактериоза животных и человека. Среди сельскохозяйственных животных в группе риска находятся телята и поросята, у людей подвержены действию ЕТЕС путешественники, военнослужащие, дети, проживающие в развивающихся странах Азии, Африки, Латинской Америки [10, 16].

Инфицирование человека и животных ЕТЕС происходит алиментарным путем через зараженную воду или пищу. ЕТЕС прикрепляется к рецепторам эпителия слизистой оболочки тонкого кишечника при помощи фимбриальных белков (адгезинов), далее бактерия колонизирует тонкий кишечник, вырабатывает энтеротоксины, что приводит к нарушению транспорта воды и электролитов в энтероцитах с последующей секреторной диареей и обезвоживанием организма [7].

В данной работе проведен анализ литературных данных главных факторов патогенности энтеротоксигенной *Escherichia coli*. К ним относят фимбриальные адгезины и энтеротоксины. Принято считать, что ЕТЕС является патогенной, если содержит фимбриальные адгезины и продуцирует энтеротоксины.

Фимбриальные адгезины. Первой стадией развития инфекционного процесса является адгезия ЕТЕС с помощью фимбриальных белков к рецепторам клеток эпителия слизистой оболочки кишечника, при этом морфологического изменения энтероцитов не наблюдается.

Фимбриальные адгезины ЕТЕС, изолированные от животных и человека, структурно отличаются, это говорит о низкой вероятности заражения человеком штаммами ЕТЕС от животных [5].

Согласно литературным данным у 75% ЕТЕС, выделенных от человека, присутствуют факторы колонизации F2 (CFA/I), F3 (CFA/II) и CF/IV. Данные фимбриальные белки являются углеводсвязывающими белками (лектинами), причем CFA/I – структурно гомогенен, CFA/II и CFA/IV неоднородны, каждый из них состоит из трех антигенов: CS1, CS2, CS3 и CS4, CS5, CS6, соответственно [15,3].

Для ЕТЕС, изолированных от животных, характерны иные фимбриальные белки: F4 (K88) сероварианты ab, ac, ad; F5 (K99); F6 (987P); F7 (F41); F17 (FY/Att25); F18 сероварианты ab, ac [1].

Согласно представленным материалам отдела бактериальных инфекций крупного рогатого скота РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Выше-

лесского» за период 2014–2017 гг. ведущее место среди адгезивных штаммов *E. coli* занимают изоляты с адгезинами F7 (F41), F17 (FY/Att25), реже встречаются *E. coli* с адгезинами F4 (K88), F5 (K99) и F6 (987p). Существует корреляция между адгезивными признаками *E. coli* и способностью вырабатывать энтеротоксины. Так для *E. coli* с серотипом K88 характерным признаком является выработка термолабильного токсина, в то время как для *E. coli* с серотипом K99 – продукция термостабильных токсинов.

Энтеротоксины ЕТЕС различаются по молекулярной массе, структурной организации, иммуногенности и механизму действия. 25% штаммов ЕТЕС продуцируют термолабильные и около 70% – термостабильные токсины [12].

Термолабильные энтеротоксины. В 1950-х годах было замечено, что некоторые штаммы *E. coli* могут вызывать желудочно-кишечные заболевания у человека, клинически проявляющиеся в виде холероподобных симптомов, что было обусловлено выработкой *E. coli* термолабильного энтеротоксина (LT). LT-энтеротоксин по функциональным, структурным и иммуногенным свойствам имеет сходство с холерным энтеротоксином, вырабатываемым бактериями *Vibrio cholerae*, что объясняет перекрестную защитную реакцию специфических антител [6, 9, 2].

Штаммы ЕТЕС вырабатывают термолабильные токсины двух классов: LT и LT-II.

Термолабильный энтеротоксин ЕТЕС. LT-энтеротоксин – олигомерный белок с молекулярной массой 85 kDa, состоящий из субъединицы А (LTa), обладающей ферментативной активностью, и пяти одинаковых субъединиц В (LTb), отвечающих за связывание токсина с энтероцитами.

Субъединицы В термолабильного энтеротоксина (молекулярная масса каждой 11,6 kDa) формируют пентамер кольцевой структуры и отвечают за специфическое связывание с моносиаловым ганглиозидом GM1 – рецептором, расположенным на мембране энтероцитов.

Субъединица А (молекулярной масса 27 kDa) состоит из двух фрагментов: пептида А1 – АДФ-рибозилтрансферазы, отвечающей за ферментативную активность LT, и пептида А2, связывающего пептид А1 с субъединицей В [17].

Специфическое связывание LT с рецепторами энтероцитов GM1 обеспечивает субъединица В, при этом формируется канал, через который пептид А1 проникает в цитозоль клетки. Проникнув в клетку, пептид А1 катализирует перенос АДФ-рибозильной группы с НАД на α -субъединицу G-белка, активирующего аденилатциклазу, что приводит к её необратимой активации, внутриклеточному накоплению циклического аденозинмонофосфата и активации цАМФ-зависимой протеинкиназы А. Последняя фосфорилирует хлоридные каналы, локализованные в апикальной мембране энтероцитов, после чего усиливается экскреция ионов Cl^- из клетки и подавляется адсорбция ионов Na^+ , что приводит к увеличению концентрации хлорида натрия в просвете кишечника, куда по осмотическому градиенту из пораженных клеток поступает вода, что приводит к развитию секреторной диареи.

Стоит отметить, что LT-энтеротоксины, продуцируемые штаммами ЕТЕС, выделенными от животных (LTp), и LT-энтеротоксины, продуцируемые штаммами ЕТЕС, изолированными от людей (LTh), отличаются первичными аминокислотными последовательностями. Также известно, что изоляты ЕТЕС, выделенные от человека, содержат сайты рестрикции для эндонуклеазы *HhaI* в гене *elt* – генетический маркер LTh-энтеротоксина. Субъединица А у них идентична, что говорит об одинаковом клиническом эффекте вышеуказанных энтеротоксинов [18].

В настоящее время выделяют еще один класс термолабильных энтеротоксинов, продуцируемых ЕТЕС, – LT-II. Несмотря на схожую структурную организацию с LT, LT-II имеет ряд отличий:

1) гены, отвечающие за продукцию токсина LT-II, закодированы не в плазмиде (характерно для LT), а в хромосомной ДНК;

2) рецепторами для LT-II являются ганглиозиды GD1, GD1b, GD1a, GT1b, GQ1b, GD2;

3) отличие по антигенным свойствам (антисыворотки против LT не нейтрализуют LT-II).

LT-II продуцируют ETEC, выделенные от человека и животных, однако механизм действия LT-II остается малоизученным, нет доказательств того, что LT-II вызывает диарею у животных и человека [13].

Термостабильные энтеротоксины.

Термостабильные энтеротоксины (ST) – пептиды с молекулярной массой 2–5 kDa не обладают иммуногенными свойствами и приобретают их лишь в сочетании с молекулой носителем (гаптенем).

Известно два типа ST-энтеротоксинов: STa (ST-I) и STb (ST-II), которые отличаются по строению и механизму действия (рисунок 1).

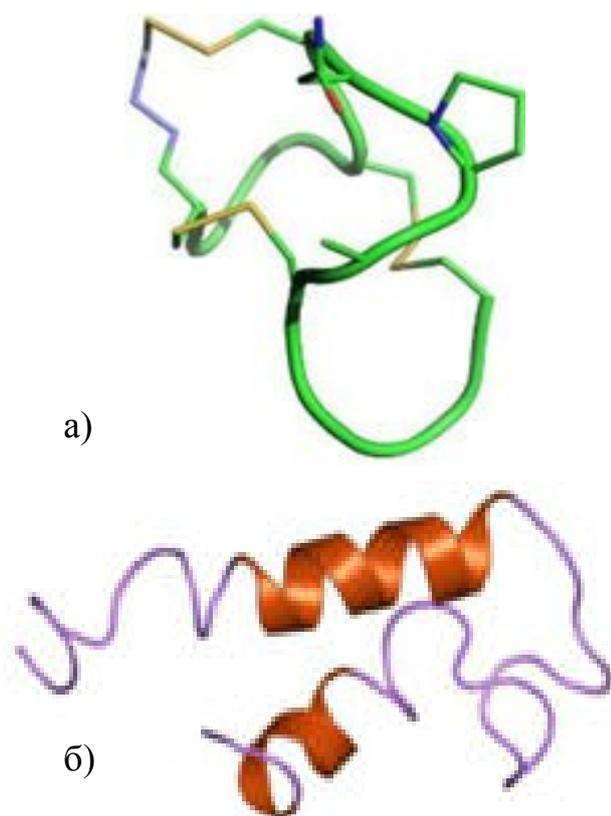


Рисунок 1 – а) кристаллическая структура энтеротоксина STa; б) кристаллическая структура энтеротоксина STb

STa-энтеротоксины продуцируют не только ETEC, но и другие грамотрицательные бактерии, вызывающие заболевания желудочно-кишечного тракта: *V.cholera*, *V.mimicus*, *Yersinia enterocolitica*, *C.freundii* и *Klebsiella spp* [11].

STa-энтеротоксины делят на два подтипа: STa-H и STa-P. STa-H продуцируют ETEC, выделенные от человека, а STa-P от ETEC, изолированных от свиней, телят, ягнят, цыплят, лошадей и человека.

Отличие STa-H от STa-P токсина состоит в количестве и составе аминокислотных остатков, содержащих 19 и 18 аминокислот, соответственно.

STa-энтеротоксины содержат на C-конце последовательность протяженностью 13 аминокислотных остатков, определяющих токсичность и термостабильность токсина. Шесть остатков цистеина, связанных между собой тремя дисульфидными «мостиками», в составе домена обуславливают токсичность этой молекулы.

Исходя из литературных данных, механизм действия STa состоит в активации гуанилатциклазной системы посредством связывания с рецепторами, сопряженными с гуанилатциклазой GC-C, что приводит к увеличению концентрации внутриклеточного циклического гуанозинмонофосфата (цГМФ), нарушению всасывания ионов Na^+ , увеличению экскреции ионов Cl^- , выводу жидкости из пораженных клеток и возникновению секреторной диареи (рисунок 2) [8].

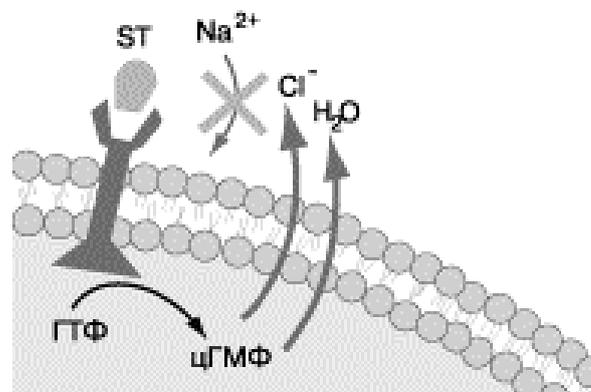


Рисунок 2 – Механизм действия STa

STb-энтеротоксины – пептиды с молекулярной массой 5 kDa, состоящие из 48 аминокислотных остатков.

STb-энтеротоксины продуцируют ETEC, изолированные от поросят-отъёмышей, значительно реже от человека, телят, цыплят.

Известно, что рецепторами для STb являются сульфатиды эпителиальных клеток кишечника, а механизм действия заключается в активации внутриклеточного

кальция, что в дальнейшем приводит также к развитию диареи [4].

В последнее десятилетие обнаружены новые факторы патогенности ETEC: термостабильный энтеротоксин EAST1, белки наружной мембраны. Энтеротоксин EAST1, который ранее считали характерным для энтероаггративных штаммов *E.coli*, в настоящее время выявляют у штаммов ETEC [14]. В таблице 1 приведена характеристика энтеротоксинов ETEC.

Таблица 1 – Характеристика энтеротоксинов ETEC

Токсин	Подтип	Молекулярный вес (kDa)	Действие	Рецептор(ы)
термолабильные энтеротоксины				
LT	LTh	85,0	активация аденилатциклазной системы	GM1
	LTr	85,0		
LT-II	LT-IIa	85,0	-	GD1b, GD1a, GT1b, GQ1b, GD2
	LT-IIb	85,0	-	GD1a, GT1b, GM3
	LT-IIc	85,0	-	GM1, GM2, GM3, GD1a
термостабильные энтеротоксины				
STa	STa-H	2,0	активация гуанилатциклазной системы	рецепторы GC-C
	STa-P	2,0		
STb	-	5,0	активация кальциевых каналов	сульфатид
EAST 1	-	4,1	активация гуанилатциклазной системы	рецепторы гуанилатциклазы GC-C

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Штаммы ETEC играют одну из ведущих ролей среди патогенных штаммов *E.coli* в развитии колибактериозной диареи у животных и человека ввиду присутствия таких факторов патогенности, как энтеротоксины и фимбриальные адгезины.

Энтеротоксины подразделяются на два класса: термолабильные и термостабильные. Самыми изученными из них по структуре, механизму действия являются термолабильный LT и термостабильный STa энтеротоксины, менее изученными остаются LT-II и STb энтеротоксины. В последнее время к классу термостабильных

энтеротоксинов ETEC стали относить EAST1, который, как считалось ранее, вырабатывался только энтероаггративной *E.coli*.

Факторы патогенности энтеротоксигенной *Escherichia coli* представляют большой научный и практический интерес, так как понимание их структуры и механизмов действия позволит решить вопросы идентификации ETEC, усовершенствовать специфические методы профилактики в борьбе с колибактериозом человека и животных, в развитии которого ETEC играет главную роль.

ЛИТЕРАТУРА

- 1 Андросик, Н.Н. Серотипизация циркулирующих культур *E.coli* сельскохозяйственных животных – основа конструирования средств специфической профилактики колибактериоза молодняка / Н.Н. Андросик, Ю.В. Ломако, С.В. Полоз, В.К. Карпович // Ученые записки, 2004. – Т.40. – №1 – С.167–168.
- 2 Andrew, C.V., Partition of Heat-Labile-Enterotoxin Genes between Human and Animal *Escherichia coli* Isolates. / C.V Andrew, W. Dallas // *Infect. Immun.*, 1987. – Vol. 55. – № 5. – P. 1329–1331.
- 3 Blanco, J. Serotypes and colonization factors of enterotoxigenic *Escherichia coli* isolated in various countries / J. Blanco [et al.] // *Eur J Epidemiol.*, 1993. – Vol.9 – P. 489–495.
- 4 Carpick, B.W. Gariépy J. Structural characterization of functionally important regions of the *Escherichia coli* heat-stable enterotoxin ST1b / B.W. Carpick // *Biochemistry*, 1991. – Vol. 30. – P. 4803–4809.
- 5 Doyle, J. *Escherichia Coli in Diarrheal Disease* / J. Doyle [et al.] // *Medical Microbiology*. 4th edition 25 chapter, 1996.
- 6 Dubreuil, J.D. The whole Shebang: the gastrointestinal tract, *Escherichia coli* enterotoxins and secretion / J.D. Dubreuil // *Current issues in molecular biology*, 2012. – Vol.14. – P. 71–82.
- 7 Dubreuil, J.D. Animal Enterotoxigenic *Escherichia coli* / Dubreuil J.D., Isaacson R.E., Schifferli D.M. // *Ecosal Plus*, 2016. – Vol. 7(1).
- 8 Forte, L.R. Guanylin stimulation of Cl⁻ secretion in human intestinal T84 cells via cyclic guanosine monophosphate / L.R. Forte [et al.] // *J. Clin Invest.*, 1993. – Vol. 91 – P. 2423–2428.
- 9 Honda, T. Immunological nonidentity of heat-labile enterotoxins from human and porcine enterotoxigenic *Escherichia coli* / T. Honda [et al.] // *Infect. Immun.*, 1981. – Vol. 34 – P. 337–340.
- 10 Nagy, B. Enterotoxigenic *Escherichia coli* in veterinary medicine / B. Nagy, P.Z. Fekete // *International journal of medical microbiology*, 2005. – Vol. 295. – P. 443–454.
- 11 Nair, G.B., The heat stable enterotoxins / G.B. Nair // *Microb. Pathog.*, 1998. – Vol. 24. – P. 123–131.
- 12 Nataro, J.P. Diarrheagenic *Escherichia coli* / J.P. Nataro, J.B. Kaper // *Clin. Microbiol. Rev.*, 1998. – Vol. 11. – P. 142–201.
- 13 Nawar, H.F. Binding to gangliosides containing N-acetylneuraminic acid is sufficient to mediate the immunomodulatory properties of the nontoxic mucosal adjuvant LT-IIb (T13I) / H.F. Nawar [et al.] // *Clin Vaccine Immunol.*, 2010. – Vol. 17. – P. 969–978.
- 14 Osek, J. Detection of the enteroaggregative *Escherichia coli* heat-stable enterotoxin 1 (EAST1) gene and its relationship with fimbrial and enterotoxin markers in *E. coli* isolates from pigs with diarrhea / J. Osek // *Vet.Microbiol.*, 2003. – Vol. 91. – P. 65–72.
- 15 Pacheco, A.B. Beyond serotypes and virulence-associated factors: detection of genetic diversity among O153:H45 CFA/I heat-stable enterotoxigenic *Escherichia coli* strains / A.B. Pacheco [et al.] // *J. Clin. Microbiol.*, 2001. – Vol. 39. – P. 4500–4505.
- 16 Ruthashini, R. Enterotoxigenic *Escherichia coli* (ETEC) as the Cause of Traveler's Diarrhea / R. Ruthashini // *American Journal of Medicine and Medical Sciences*, 2014. – Vol. 4. – № 5. – P. 154–160.
- 17 Streatfield, S.J. Intermolecular interactions between the A and B subunits of heat-labile enterotoxin from *Escherichia coli* promote holotoxin assembly and stability in vivo / S. J. Streatfield [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1992. – Vol. 89. – P. 12140–12144.
- 18 Tsuji, T.S. Molecular heterogeneity of heat-labile enterotoxins from human and porcine enterotoxigenic *Escherichia coli* / T.S. Tsuji [et al.] // *Infect. Immun.*, 1982. – Vol. 38. – P. 444–448.

Вакцина «РЕСПИВАК»

ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ ПАСТЕРЕЛЛЕЗА КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА



- вызывает выработку специфических антител у крупного рогатого скота к *Pasteurella multocida* серовариантов А, В и *Mannheimia haemolytica*;
- вводится внутримышечно;
- вакцинацию коров (телок) проводят независимо от срока стельности в дозе 2,0 см³;
- телок начинают вакцинировать с 15–16-месячного возраста;
- телят вакцинируют с 5–10-дневного возраста в дозе 1,0 см³;
 - иммунитет наступает через 14–21 день после вакцинации и сохраняется в течение последующих 12 месяцев;
 - выпускают по 10, 20, 50, 100, 200, 400 см³;
 - срок годности вакцины – 18 месяцев при температуре от плюс 2 до плюс 8°C.