UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
Programa de Pós-Graduação em Farmácia
Área Análises Clínicas

Caracterização Molecular e Fenotípica da Disseminação de Diferentes
Sorotipos de *Escherichia coli* Enteroinvasora em Células Epiteliais
Intestinais da Linhagem Caco-2

Hadassa Cristhina de Azevedo Soares dos Santos

Dissertação para obtenção do grau de

MESTRE

Orientador:

Prof^a. Tit. Marina Baquerizo Martinez

São Paulo

2012

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
Programa de Pós-Graduação em Farmácia
Área Análises Clínicas

Caracterização Molecular e Fenotípica da Disseminação de Diferentes
Sorotipos de *Escherichia coli* Enteroinvasora em Células Epiteliais
Intestinais da Linhagem Caco-2

Hadassa Cristhina de Azevedo Soares dos Santos

Dissertação para obtenção do grau de

MESTRE

Orientador:

Prof^a. Tit. Marina Baquerizo Martinez

São Paulo

2012

Hadassa Cristhina de Azevedo Soares dos Santos

**Caracterização Molecular e Fenotípica da Disseminação de Diferentes
Sorotipos de *Escherichia coli* Enteroinvasora em Células Epiteliais Intestinais
da Linhagem Caco-2**

Comissão Julgadora

da

Dissertação para obtenção do grau de Mestre

Prof^a. Tit. Marina Baquerizo Martinez

Orientador/Presidente

1º examinador

2º examinador

São Paulo, _____ de _____.

RESUMO

Escherichia coli enteroinvasora (EIEC) e *Shigella* spp. causam disenteria bacilar, caracterizada pela destruição das células epiteliais da mucosa do cólon do hospedeiro. Ambos os microrganismos apresentam características bioquímicas, genéticas e patogênicas semelhantes, porém a doença causada por EIEC se apresenta numa forma mais branda e auto limitante. Dois genes plasmidiais, *icsA* e *icsB* estão envolvidos na disseminação intra e intercelular da bactéria, fator importante na produção e resolução da doença. Trabalhos anteriores mostraram que *S. flexneri* M90T possui uma capacidade maior de disseminação do que o sorotipo de EIEC O124:H⁻. Devido a esses resultados surgiu a seguinte pergunta: Será que essas diferenças moleculares e fenotípicas estariam restritas ao sorotipo O124:H⁻ ou é comum ao patotipo EIEC? Assim, neste trabalho avaliamos as características fenotípicas e moleculares de onze diferentes sorotipos de EIEC e as comparamos com as amostras de *S. flexneri*. Pelo ensaio de placas de lise em células Caco-2 mostramos que a capacidade de disseminação de todos os sorotipos de EIEC é menor quando comparada à *Shigella* M90T. Ao avaliar as sequências gênicas vimos polimorfismos dos genes *icsA* e *icsB* dentro do grupo EIEC, assim como em relação aos sorotipos *S. flexneri* 2a e *S. flexneri* 5a. A menor disseminação, apresentado pelo patotipo de *E. coli*, pode estar associada com o processo de ligação e/ou recrutamento de N-WASP, como também na interação com outras proteínas do hospedeiro.

Palavras chave: *Escherichia coli* enteroinvasora. *Shigella flexneri*. Disseminação. Caco-2

ABSTRACT

Enteroinvasive *Escherichia coli* (EIEC) and *Shigella* spp cause bacillary dysentery in humans by invading and multiplying within epithelial cells of the colonic mucosa. Although EIEC and *Shigella* spp share many genetic and biochemical similarities, the illness caused by EIEC is less severe. The effector proteins IcsA and IcsB are important in the physiopathology of the disease triggered by EIEC and *Shigella* spp. IcsA is required for intracellular actin-based motility, and the role of IcsB is to camouflage IcsA from the autophagic host defense system. Previous studies showed that EIEC O124:H⁻ showed a significantly less efficient cell-to-cell Caco-2 dissemination when compared with *S. flexneri*. Due to these results the following question arose: Are molecular and phenotypic differences restricted to serotype O124:H⁻ or is it common to EIEC pathotype? Thus, this study evaluated the phenotypic and molecular characteristics of eleven different serotypes of EIEC and compares them to samples of *S. flexneri*. All EIEC serotypes presented lower cell-to-cell Caco-2 dissemination compared to *Shigella* M90T, and the differences between this two species expanded to the *icsA* and *icsB* gene sequences, in which it was possible to observe a polymorphism of the genes. The smallest spread presented by EIEC *E. coli* pathotype could be associated with the connection process and/or recruitment of N-WASP, as well as to other important host proteins.

Keywords: Enteroinvasive *Escherichia coli*. *Shigella flexneri*. Dissemination. Caco-2

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Modelo de infecção induzida por <i>Shigella</i>	22
Figura 2	Mapa esquemático da ilha de patogenicidade de 31kb do plasmídeo de <i>S. flexneri</i>	24
Figura 3	Movimento intracelular de <i>S. flexneri</i> pela polimerização de actina	26
Figura 4	Modelo proposto para impedir o reconhecimento autofágico durante a invasão da bactéria	27
Figura 5	Esquema dos iniciadores internos e externos do gene <i>icsA</i>	36
Figura 6	Esquema dos iniciadores internos e externos do gene <i>icsB</i>	38
Figura 7	Representação esquemática do vetor de clonagem <i>pCR[®]2.1 TOPO</i>	39
Figura 8	Ensaio de placas de lise em células Caco-2	43
Figura 9	Alinhamento da sequência de aminoácidos da proteína IcsA dos diferentes sorotipos de EIEC e de <i>Shigella flexneri</i> 2A e 5A	51
Figura 10	Alinhamento da sequência de aminoácidos da proteína IcsB dos diferentes sorotipos de EIEC e de <i>Shigella flexneri</i> 2A e 5A	53
Figura 11	Comparação das estruturas secundárias da proteína IcsA dos diferentes sorotipos de EIEC e de <i>S. flexneri</i> 5a (M90T)	65
Figura 12	Comparação das estruturas secundárias da proteína IcsB dos diferentes sorotipos de EIEC e de <i>S. flexneri</i> 5a (M90T)	70

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Relação dos diferentes sorotipos <i>Escherichia coli</i> enteroinvasora isolados de amostras diarréicas	32
Tabela 2	Iniciadores sintetizados a partir da sequência de nucleotídeos da cepa de <i>Shigella flexneri</i> depositada no GenBank (N° nc_002698)	36
Tabela 3	Iniciadores sintetizados a partir da cepa de <i>Shigella flexneri</i> depositada no GenBank (N° nc_002698)	38
Tabela 4	Relação das trocas de nucleotídeos do <i>icsA</i> , entre as <i>Shigella flexneri</i> , entre as EIEC e entre ambas espécies bacterianas	45
Tabela 5	Relação das trocas de nucleotídeos do <i>icsB</i> , entre as <i>Shigella flexneri</i> , entre as EIEC e entre ambas espécies bacterianas	46
Tabela 6	Relação de trocas de aminoácidos da proteína IcsA, devido à mudanças de nucleotídeos entre os sorotipos de EIEC com as <i>Shigella flexneri</i>	54
Tabela 7	Relação de trocas de aminoácidos da proteína IcsB, devido à mudanças de nucleotídeos entre os sorotipos de EIEC com as <i>Shigella flexneri</i>	55

LISTA DE ABREVIATURAS

aa	aminoácidos
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
MΦ	macrófagos
DC	células dendríticas
SSTT	sistema de secreção do tipo III
°C	graus Celsius
Kb	kilobase
kDa	kilodalton
AgO	antígeno O
IROMP'S	proteínas relacionadas com o metabolismo do ferro
EIEC	<i>Escherichia coli</i> enteroinvasora
VC	vermelho congo
MC	Agar MacConkey
TSB	caldo trípico de soja
VC+	vermelho congo positivo
VC-	vermelho congo negativo
rpm	rotação por minuto
λ	comprimento de onda
nm	nanômetro
DMEM	Dulbecco's modified Eagle's medium
SFB	soro fetal bovino
U	unidade
mL	mililitro
μg	microgramas
cm	centímetros

DMSO	dimetilsulfóxido
SST	solução salina tamponada
μM	micro molar
μg	microgramas
CO ₂	gás carbônico
g	gravidade
g	gramas
ng	nano grama
nm	nanômetros
μL	microlitros
mM	mili molar
dNTP	nucleotídeos tri-fosfatos
cDNA	DNA complementar
PCR	Reação polimerase em cadeia
RT-PCR	Transcriptase reversa-PCR
UV	ultravioleta
pb	pares de bases
C	citossina
G	guanina
T	timina
A	adenina

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	17
1.1	<i>Escherichia coli</i> enteroinvasora	17
1.2	Epidemiologia	19
1.3	Mecanismos de patogenicidade	21
1.3.1	Estudos realizados para o esclarecimento da patogenicidade de EIEC	28
2	OBJETIVOS	31
2.1	Objetivo Geral	31
2.2	Objetivos Específicos	31
3	MATERIAL E MÉTODOS	32
3.1	Amostras Bacterianas	32
3.2	Reativação dos sorotipos de EIEC	33
3.3	Inóculo Bacteriano	33
3.4	Cultura Celular	34
3.5	Ensaio de formação das placas de lise: <i>Plaque assay</i>	34
3.6	Gene <i>icsA</i>	35
3.6.1	Amplificação	35
3.6.2	Seqüenciamento	37
3.6.3	Análise do gene <i>icsA</i>	37
3.7	Gene <i>icsB</i>	37
3.7.1	Amplificação	38
3.7.2	Clonagem	39
3.7.3	Seqüenciamento	40
3.7.4	Análise do gene <i>icsB</i>	41
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	42
5	DISCUSSÃO	71
6	CONCLUSÃO	79
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	80
	ANEXO A – Seqüenciamento <i>icsA</i>	88
	ANEXO B – Seqüenciamento <i>icsB</i>	102
	ANEXO C – Significância das diferenças de disseminação, através da formação de placas de lise, entre os sorotipos de EIEC e M90T	108

1 INTRODUÇÃO

1.1 *Escherichia coli* enteroinvasora

A espécie *Escherichia coli* compreende amostras comensais, que predominam entre a microbiota anaeróbia facultativa do cólon de mamíferos e amostras patogênicas, que se distinguem por suas características biológicas, sorológicas, fatores de virulência e síndromes clínicas. Cada grupo é classificado de acordo com seu modo de ação (LEVINE, 1987). As amostras de *Escherichia coli* diarreiogênicas podem ser divididas em seis categorias: *E. coli* enteroinvasora (EIEC), *E. coli* enteropatogênica (EPEC), *E. coli* enterotoxigênica (ETEC), *E. coli* enterohemorrágica (EHEC), *E. coli* enteroagregativa (EAaggEC) e *E. coli* que adere difusamente (DAEC) (NATARO & KAPER, 1998).

Escherichia coli enteroinvasora (EIEC) é um dos importantes causadores de Disenteria Bacilar, principalmente em países em desenvolvimento (PACHECO-GIL et al., 2006). Esse grupo de bactérias causa ceratoconjuntivite experimental em cobaias (SÉRENY, 1963; TRABULSI et al., 1967) e invadem e colonizam as células do cólon intestinal humano, provocando uma infecção semelhante à provocada por amostras de *Shigella sp* (PARSOT et al., 2005).

As amostras de EIEC se apresentam nos seguintes sorotipos: O28ac:H⁻, O29:H⁻, O112ac:H⁻, O121:H⁻, O124:H30, O124:H⁻, O135:H⁻, O136:H⁻, O143:H⁻, O144:H⁻, O152:H⁻, O164:H⁻, O167:H⁻ e O173:H⁻. Alguns deles foram descritos pela primeira vez no Brasil, sendo O29:H⁻, O136:H⁻, O144:H⁻, O152:H⁻, O167:H⁻

(TRABULSI et al, 1965; FERNANDES et al., 1967; TRABULSI et al., 1967; TOLEDO et al., 1979; TOLEDO et al., 1980; GROSS et al., 1983).

A primeira descrição dessa bactéria foi feita por EWING e GRAVATTI (1947), onde isolaram amostras de *E. coli* a partir de fezes de soldados americanos com diarreia, durante a segunda guerra mundial. Estudos posteriores realizados por SERENY (1963) demonstraram que essa amostra provocava ceratoconjuntivite em cobaias e pertencia ao sorogrupo O124.

No Brasil, TRABULSI e colaboradores (1965), isolou das fezes de um paciente com enterite aguda a primeira amostra capaz de produzir ceratoconjuntivite em cobaia. Estudos posteriores revelaram que esta pertencia ao sorogrupo O136 (TRABULSI & FERNANDES, 1969).

Essas bactérias apresentam propriedades bioquímicas particulares e os primeiros trabalhos mostrando tais especificidades sobre EIEC foram apresentados por TRABULSI *et al.*, 1967, no Brasil, e por SAKAZAKI *et al.* 1967, no Japão. Ambos foram isolados a partir de casos diarréicos, tanto em crianças como em adultos, sabendo-se que a infecção por EIEC acomete mais em crianças acima de 5 anos e em adultos, porém pode acometer em crianças abaixo de 5 anos, causando uma intensa inflamação (PACHECO-GIL et al, 2006, MORENO et al, 2010). Todas as amostras foram positivas para o teste de Serény e apresentaram duas características em comuns: não descarboxilavam a lisina e eram imóveis, com exceção de uma amostra do sorogrupo O124 que era móvel, cujo antígeno flagelar era H30 (TRABULSI *et al.*, 1967). Em 1980, SILVA e colaboradores, obtiveram três amostras não tipáveis, que posteriormente foram identificadas como O167 (GROSS et al., 1983).

1.2 Epidemiologia

A maioria das infecções causadas por esses microrganismos é através da transmissão fecal-oral de pessoa para pessoa e é geralmente via contato direto. Porém, alguns dados obtidos mostram que a prevalência não obedece a um padrão de uniformidade. Marier e colaboradores, 1973 descreveram surto de diarreia nos Estados Unidos, que atingiu 384 indivíduos, e o veículo de transmissão foi um queijo importado da França contaminado pelo sorogrupo O124. Também no Brasil, têm-se relato de três amostras isoladas de água contaminada (VALENTINI et al., 1992), assim como em Portugal onde foram encontradas amostras de EIEC em água contaminada (CABRAL, 2010). FDA (2011) afirma que não sabe quais alimentos podem abrigar EIEC, porém surtos têm sido associados com hambúrguer de carne e leite não pasteurizado, mas qualquer alimento contaminado com fezes humanas de um indivíduo doente, seja diretamente ou através de água contaminada, pode causar doença em outros indivíduos.

EIEC tem sido responsabilizada por vários surtos epidêmicos. TOLEDO e TRABULSI (1990) pesquisaram a presença desta bactéria em diferentes áreas da cidade de São Paulo, avaliando principalmente crianças de até cinco anos, moradores ou não de comunidades carentes. Foram encontradas 17 amostras em 107 crianças de comunidades carentes com diarreia (15,8%) e em 16 de 701 das crianças não moradoras de comunidades carentes (2,3%). Esses dados também mostram que as condições sanitárias e socioeconômicas podem favorecer o estabelecimento da doença.

Estudos realizados fora da cidade de São Paulo (OLIVEIRA et al., 1989; ALMEIDA et al., 1998) mostraram baixa prevalência deste microrganismo. Em 130 casos estudados em Porto Velho (RO), se obteve apenas um isolado (ORLANDI et al, 2001). No entanto, em 2006, Orlandi e colaboradores analisando amostras de 86 crianças, encontraram 7 casos (1,4%) de EIEC, sendo sua frequência maior do que EHEC (3 casos - 0,6%). Já no estado do Rio de Janeiro foi encontrado EIEC em uma única amostra de uma criança de 10 meses de idade, sendo isolado o sorotipo O143 (REGUA-MANGIA et al, 2004). Em um estudo realizado em João Pessoa, Nordeste do Brasil, foram analisadas amostras de 290 crianças com diarreia e 290 crianças saudáveis, porém das que apresentavam diarreia apenas cinco crianças foram constatadas com infecção por EIEC (MORENO et al, 2010).

Em outros países, seja desenvolvido ou em desenvolvimento, estudos de prevalência também foram realizados. Em Calcutá, a prevalência de EIEC em um grupo de 263 pacientes hospitalizados com diarreia foi elevada, 16,3% dos casos (CHATERJEE & SANYAL, 1984), enquanto na Tailândia, encontraram uma prevalência de 5% entre 200 crianças de 1 a 10 anos de idade (TAYLOR et al., 1986). Na China e outros países asiáticos encontrou-se uma prevalência de 7% e 4%, respectivamente (ECHEVERRIA et al., 1992; KAIN et al., 1991; TAMURA et al., 1996). Outros estudos mostraram que na Nigéria (OGUNSANYA *et al.*, 1994) e Irã (KATOULI *et al.*, 1990) a distribuição de EIEC encontrou-se abaixo (menos que 0,1%) das taxas encontradas em países desenvolvidos; na Espanha, por exemplo, foi encontrada uma frequência de 0,2% (PRATS, *et al.*, 1995).

VIEIRA e colaboradores, 2007, relataram a alta prevalência de EIEC isolada numa região no norte do Equador, no entanto essa bactéria tem sido pouco reportada como agente etiológico nas pesquisas sobre a diarreia. A justificativa é

que as análises utilizadas nos laboratórios de rotina geralmente não conseguem distinguir entre os agentes EIEC e *Shigella*, devido à grande similaridade bioquímica, genética e fisiopatológica apresentada por essas bactérias (SILVA et al., 1980; KAPER et al., 2004; PARSOT et al., 2005). Assim, a doença causada por EIEC é incomum, mas pode ser confundida com Shigelose e sua prevalência pode ser subestimada.

1.3 Mecanismos de Patogenicidade

Embora a infecção devido à EIEC seja clinicamente indistinguível daquela causada por *Shigella*, estudos com voluntários humanos mostraram que a dose infectante de EIEC é maior (da ordem de 10^6) do que de *Shigella* (10 a 10^2 microrganismos) (DuPONT, 1971).

Após a ingestão, ambas as bactérias passam pela barreira ácida estomacal, invadem a mucosa do cólon intestinal e iniciam uma resposta inflamatória (RATMAN et al., 2000), causando assim a doença denominada Disenteria Bacilar. O quadro clínico é caracterizado por diarreia líquida e/ou sanguinolenta, com a presença de leucócitos e muco, frequentemente acompanhada de dor abdominal severa, vômitos, tenesmo, cefaleia, febre, calafrios e mal-estar generalizado (DuPONT et al., 1971; FAUNDEZ et al., 1988).

Assim, devido à similaridade entre as bactérias, os resultados obtidos com *S. flexneri* foram aplicados, de uma maneira geral, à EIEC e às outras espécies de *Shigella* (PARSOT et al., 2005).

A rota de entrada utilizada pela bactéria se dá através das células M (*microfold cells*) presentes na mucosa intestinal (SANSONETTI *et al.*, 1996). Penetrando por estas células, a bactéria encontra células fagocíticas na lâmina própria e a fagocitose por macrófagos e/ ou células dendríticas é o primeiro passo para a produção da resposta inflamatória contra as cepas bacterianas. Após o escape do fagossomo a bactéria penetra no enterócito, pelo lado basolateral, e se dissemina para as células adjacentes (Figura 1). Este processo de invasão, multiplicação e disseminação se repetem, levando a destruição total da monocamada do epitélio intestinal (PARSOT, 2005).

Figura 1 - Modelo de infecção induzida por *Shigella*. Translocação bacteriana através das células M (1). Fagocitose pelos macrófagos e/ou células dendríticas residentes (2), escape por indução a apoptose celular (3), invasão do enterócito através da região basolateral (4), disseminação (5) e indução a formação de protrusões e lise da dupla membrana com liberação da bactéria na célula vizinha (6) (modificado de PARSOT, 2005).

Um conjunto específico de fatores de virulência está envolvido na invasão e sobrevivência de EIEC e *Shigella* no interior das células intestinais. A secreção de um conjunto de proteínas efetoras através do Sistema de Secreção do Tipo III (SSTT) nas células hospedeiras é um passo crucial para iniciar o processo de internalização.

Nestes processos, múltiplos genes cromossomais e plasmidiais estão envolvidos, como também requer um nível moderado da pressão osmótica, pH e temperatura, sendo este um estímulo ambiental considerado importante para a ativação da expressão dos genes de virulência em EIEC (KONKEL e TILLY et al., 2000; ALBUQUERQUE, 2006), sendo que o responsável por este fenótipo é um gene cromossomal, denominando *hns*. Ele regula a expressão dos genes dependendo diretamente da temperatura, reprimindo a transcrição dos genes plasmidiais durante o crescimento a 30°C (BERLUTTI et al., 1998; PROSSEDA et al., 1998).

Os outros genes envolvidos no mecanismo de virulência, estão em uma região de 31 Kb, formado por 32 genes, que se encontra em um Plasmídeo de Virulência (VP), denominado *pInV* (aproximadamente 230 Kb). É composto pelos seguintes genes: *virB* (ativador transcricional dos operons: *ipa*, *mxi* e *spa*); *virF* (regulador de *virB* e *icsA*); locus *mxi-spa* (sistema de secreção das Ipas); *ipa* (genes de invasão); *ipg* (genes de chaperonas) e *ics* (genes de disseminação) (FORMAL et al., 1983) (Figura 2). Estes genes codificam proteínas de síntese do sistema de secreção tipo III (Mxi e Spa), de invasão (Ipas), de disseminação (Ics) e chaperoninas (Ipg) (LE-GALL et al., 2005).

Figura 2 - Mapa esquemático da ilha de patogenicidade de 31 kb do plasmídeo de *S. flexneri*. A orientação da transcrição está indicada com as flechas pretas, os localizações dos promotores (P) e as flechas verticais indicam a ponto de regulação das proteínas VirF e VirB (modificado de PORTER AND DORMAN, 1997).

A regulação da transcrição dos genes se dá através de uma proteína denominada VirF (codificado pelo gene *virF*), um membro da família das AraC de ativadores transcricionais, no qual regula positivamente a transcrição dos genes *virB* e *icsA* (HURT et al, 2010). E VirB por sua vez regula a transcrição dos operons *ipa*, *mxl* e *spa* e também os genes *icsB* e *ipg* (A, B, C, D, E e F).

O aparato do sistema de secreção do tipo III (SSTT) é ativado no contato do microrganismo com a célula hospedeira (MENARD et al., 1996), onde forma um poro na membrana celular, possibilitando a passagem de proteínas efetoras para o interior do citoplasma da célula hospedeira. Dentre essas proteínas efetoras, as Ipas tem um papel importante na internalização nas células eucarióticas, conhecidas como IpaA (78 kDa), IpaB (62 kDa), IpaC (43 kDa) e IpaD (38 kDa). Sendo que uma das primeiras proteínas a ser ejetada para o citoplasma da célula hospedeira durante a invasão é a IpaA, onde interage com a vinculina, e este complexo liga-se aos filamentos de actina levando a um rearranjo do citoesqueleto, sendo este processo conhecido como macropinocitose (COSSART & SANSONETTI, 2004).

O citoplasma das células intestinais é um nicho replicativo para EIEC. Ali, a bactéria é protegida das células do sistema imune presente no meio extracelular.

Porém, o microrganismo tem que escapar dos mecanismos de defesa do hospedeiro e se preparar para disseminar para novos nichos de replicação. A sobrevivência intracelular e a disseminação para as células adjacentes dependem de mecanismos utilizados pela bactéria para se mover através da polimerização de actina. Esse mecanismo de motilidade baseado na actina tem sido extensivamente estudado em patógenos intracelulares (GOUIN et al., 2005; STEVENS et al., 2006).

Um dos mediadores bacteriano na polimerização de actina é a proteína IcsA/VirG (*inter and intracellular spread*), localizada em um dos pólos da bactéria (JAIN et al., 2006). Sendo que a localização unipolar desta proteína é importante para que ocorra a formação da “cauda” de actina (ROBBINS et al., 2001), pois se sua localização for distribuída disformemente pela membrana bacteriana, a sua motilidade será desordenada (STEINHAEUER et al., 1999). No entanto, a localização unipolar e atividade de IcsA são controlados por uma protease serina SopA/IcsP e uma apirase PhoN2 (STEINHAEUER et al., 1999; JAIN et al., 2006; SANTAPAOLA et al., 2006), sendo IcsP (SopA) de extrema importância, pois a sua ausência leva a uma alteração na distribuição de IcsA, fazendo com que esta proteína se instale na lateral da membrana do microrganismo, além de ser o responsável pela clivagem de IcsA para que esta se desloque para a membrana externa. A localização e a clivagem de IcsP são exclusivamente na membrana externa do microrganismo (STEINHAEUER et al., 1999).

Com o IcsA sendo apresentado na superfície há recrutamento e ativação de fatores da célula hospedeira, incluindo o *neuronal Wiskott-Aldrich syndrome protein* (N-WASP) e o complexo Arp2/3 (EGILE et al., 1999). Estes fatores são ativados quando IcsA interage com N-WASP que por sua vez recruta o complexo Arp 2/3, que polimeriza filamentos de actina. O acúmulo de filamentos de actina forma uma

cauda estilo “cometa” na região polar da bactéria, proporcionando então uma motilidade de propulsão do microrganismo para frente (BERNARDINI *et al.*, 1989; RATHMAN *et al.*, 2000) (Figura 3).

Figura 3 - Movimento intracelular de *S. flexneri* pela polimerização de actina. Devido a atividade da protease serina SopA/IcsP, o IcsA de *S. flexneri* localiza a um dos pólos da bactéria, onde interage com a proteína celular N-WASP. O complexo IcsA/N-WASP recruta e ativa o complexo Arp 2/3, mediando a nucleação da actina. O alongamento da cauda de actina empurra *S. flexneri* através do citoplasma. O movimento é facilitado por VirA, que abre o caminho degradando a rede de microtúbulos. Para evitar o sistema de defesa por autofagia, a proteína IcsB mascara IcsA, pois esta é uma proteína que é reconhecida na autofagia (Modificada de SCHROEDER e HILBI, 2008).

Porém, para que o mecanismo de formação de “cauda” de actina e consequentemente para que a propulsão da bactéria ocorra, necessita-se de outra proteína bacteriana denominada IcsB, que se liga a uma região da proteína IcsA, expressa na membrana externa da bactéria, impedindo que ocorra um processo de degradação do patógeno, denominado autofagia (OGAWA *et al.*, 2005).

Esta proteína inicialmente foi relatada por Allaoui e colaboradores (1992) como sendo necessária para a lise das duas membranas celulares que envolvia a bactéria na passagem de uma célula infectada para outra adjacente. Estudos posteriores demonstraram que cepas de *Shigella* sem o gene *icsB* são capazes de invadir a célula hospedeira e escaparem dos vacúolos, porém era restrito para sua multiplicação pela autofagia (OGAWA et al., 2005). Este dado mostra a importância da proteína IcsB para o processo de disseminação do microrganismo. Sabe-se que uma região de IcsA possui uma alta afinidade com uma proteína autofágica, denominada Atg5, que é importante para o início da formação do autofagossomo (OGAWA et al., 2005) e, assim, levar a formação do autolisossomo, ocasionando então a morte da bactéria (Figura 4).

Figura 4 - Modelo proposto para impedir o reconhecimento autofágico durante a invasão da bactéria. Na presença de IcsB (Selvagem). IcsB se liga ao VirG/IcsA e competitivamente inibe a ligação de Atg5 com VirG/IcsA. Na ausência de IcsB (*icsB* mutante). Atg5 se liga a VirG/IcsA acumulado no polo da bactéria, e intracelularmente a bactéria é reconhecida pela autofagia e então degradada pelo autolisossomo (cellular microbiology).

Por este motivo, a bactéria tenta escapar deste processo de morte através da secreção da proteína IcsB pelo Sistema de Secreção do Tipo III, que compete com a proteína autofágica Atg5 pelo sítio de ligação de IcsA.

Devido à importância do IcsB na patogênese de *Shigella*, Moreno (2007) iniciou um estudo sobre possíveis diferenças na estrutura protéica dessa proteína de EIEC, visto que polimorfismos haviam sido detectados pelos experimentos anteriores (ALBUQUERQUE, 2006). Assim, o *icsB* de EIEC foi amplificado e seqüenciado para o conhecimento da cadeia de nucleotídeos. Esta foi traduzida para proteína e sua sequência foi comparada com a sequência protéica de IcsB de *Shigella flexneri* (M90T). Algumas diferenças foram observadas no que concerne à cadeia nucleotídica e essas diferenças proporcionaram substituição de aminoácidos na cadeia peptídica.

1.3.1 Estudos realizados para o esclarecimento da patogenicidade de EIEC

Testes de Serény realizados por Moreno e colaboradores (2009) mostraram claramente a diferença de patogenicidade entre EIEC e *Shigella*. O desenvolvimento da ceratoconjuntivite em cobaias inoculadas com EIEC ocorre após quatro a cinco dias de infecção enquanto que *Shigella* desencadeia essa patologia após 48 horas, além de proporcionar um quadro clínico mais grave, com a presença de ulcerações na córnea do animal. Contudo, foi demonstrado que não há diferenças significativas entre os plasmídeos de invasão das duas espécies (FORMAL *et al.*, 1983).

Após diversos ensaios fenotípicos que não elucidaram possíveis diferenças entre EIEC e *Shigella* (AZEVEDO, 1998; DALL'AGNOL E MARTINEZ, 1999), Gibotti e colaboradores (2004) estudaram as sequências de nucleotídeos dos genes de invasão dos diferentes sorotipos de EIEC. E observaram que os genes *ipaA*, *ipaB*, *ipaC* e *ipaD* de EIEC não possuem diferenças em suas sequências de nucleotídeos que possam explicar a distinta patogenicidade entre EIEC e *Shigella*.

A partir dos resultados obtidos anteriormente em 2005 foram iniciados estudos onde se abordou a interação de EIEC com macrófagos J774 e/ou macrófagos peritoniais murinos. Os dados desses estudos sugeriram que a doença mais branda causada por EIEC se deve provavelmente aos menores níveis transcricionais dos genes de virulência desse microrganismo, que podem resultar em uma menor tradução protéica quando comparado à *S. flexneri* (BANDO et al , 2010).

Também foram conduzidos estudos sobre a interação de EIEC e *Shigella flexneri* com células epiteliais intestinais da linhagem Caco-2 (MORENO et al., 2009). Não foram observadas grandes diferenças na resposta inflamatória induzida por esses microrganismos. Contudo, altas concentrações de óxido nítrico foram secretadas pelas células Caco-2 após infecção com EIEC (FERREIRA, 2008). De maneira interessante, após infecção e disseminação bacteriana nas células intestinais, a expressão dos genes de virulência de EIEC foram significativamente menores que os de *Shigella*. Esses dados foram corroborados com os ensaios de disseminação bacteriana, com formação de menores placas de lise na infecção por EIEC (MORENO et al., 2009).

Como o intestino é o sítio anatômico alvo da infecção por EIEC, estudos com células intestinais são necessários para o conhecimento em relação parasito-hospedeiro. Devido a este fato, as células utilizadas neste trabalho são Caco-2, sendo derivadas de um adenocarcinoma intestinal humano. Quando em cultura, se diferenciam expressando características morfológicas e bioquímicas do enterócito do intestino delgado (PINTO et al., 1983) apresentando em monocamada uma morfologia polarizada cilíndrica, microvilosidades no lado apical, *tight junctions* entre as células adjacentes, além da expressão de hidrolases enzimáticas (SAMBUY et al., 2005).

Devido à importância em esclarecer a menor disseminação em EIEC, quando comparada com *Shigella flexneri*, podendo ser este tópico da patogenicidade que sustenta a sua menor virulência. Este presente trabalho avaliou a expressão gênica de *icsA* e *icsB*, como também analisou suas sequências de nucleotídeos e aminoácidos de diferentes sorotipos de *Escherichia coli* enteroinvasora e comparou com os fenótipos de disseminação apresentados em cada sorotipo de EIEC em células intestinais da linhagem Caco-2.

Esperamos contribuir, através de nossos resultados, para um melhor conhecimento do mecanismo de patogenicidade dos diferentes sorotipos de EIEC nos enterócitos, visto que seu nicho replicativo e de disseminação se dá no interior das células intestinais.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

- Caracterizar a disseminação de diferentes sorotipos de *Escherichia coli* enteroinvasora em células epiteliais intestinais da linhagem Caco-2 e verificar possíveis diferenças moleculares em genes responsáveis pela disseminação bacteriana.

2.2 Objetivos específicos

- Comparar a capacidade de disseminação dos diferentes sorotipos de EIEC em células epiteliais intestinais Caco-2;
- Caracterizar molecularmente os genes *icsA* e *icsB* de sorotipos de EIEC pela análise de suas sequências de nucleotídeos, através do produto da PCR (Reação Polimerase em Cadeia);
- Relacionar as possíveis diferenças genéticas e fenotípicas com os sorotipos de EIEC, em busca de características comuns ou distintas para cada sorotipo.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Amostras Bacterianas

Foram selecionados diferentes sorotipos de *E. coli* enteroinvasora (Tabela 1), isoladas de amostras de fezes de indivíduos com diarreia. As cepas selecionadas foram submetidas ao teste de Serény, para confirmação de sua capacidade invasora (SERÉNY, 1963). O cultivo das bactérias foi realizado em caldo tríptico de soja (TSB), ágar vermelho-congo (VC) [ágar tríptico de soja, acrescido de 0,02% de corante vermelho congo (Sigma)] (PAYNE & FINKELSTEIN, 1977) e em ágar MacConkey (MC) incubados a 37°C em estufa bacteriológica.

Tabela 1 – Relação dos diferentes sorotipos *E. coli* enteroinvasora isolados de amostras diarréicas.

Sorotipo	Amostras	Período Isolado	Local	Teste de Serény
O28ac:H ⁻	FBC O28/6	-	São Paulo	+
O29:H ⁻	FBC O29/4	1982	-	+
O112ac:H ⁻	FBC O112/17	1958	São Paulo	+
O124:H30	FBC O124/7	1968	São Paulo	+
O124:H ⁻	FBC O124/13	1979	Araraquara	+
O136:H ⁻	FBC O136/11	-	São Paulo	+
O143:H ⁻	FBC O143/2	1979	São Paulo	+
O144:H ⁻	FBC O144/6	1966	São Paulo	+
O152:H ⁻	FBC O152/1	1977	Botucatu	+
O164:H ⁻	FBC O164/4	1985	Manaus	+
O167:H ⁻	FBC O167/1	1981	São Paulo	+

3.2 Reativação dos sorotipos de EIEC

Os diferentes sorotipos de *Escherichia coli* enteroinvasora foram inoculados em cultura de células Caco-2 e incubados por 18 horas. As amostras bacterianas foram recuperadas e semeadas em Agar VC. As colônias mais virulentas foram selecionadas e adicionadas em caldo TSB e, posteriormente armazenadas a -80°C. Estas amostras bacterianas foram utilizadas nos ensaios de infecção.

3.3 Inóculo Bacteriano

Em todos os ensaios de infecção, as amostras de EIEC foram semeadas em ágar VC e incubadas a 37°C por 48 horas. O corante Vermelho Congo foi utilizado como um marcador de virulência das amostras bacterianas (MAURELLI *et al.*, 1984). A coloração vermelho-tijolo das colônias de EIEC é o resultado da precipitação do corante pelas proteínas secretadas pelas bactérias com fenótipo invasivo (BAHRANI *et al.*, 1997), sendo utilizada para distinguir amostras invasoras (colônias VC⁺) e não-invasoras (colônias VC⁻).

Desta forma, foram selecionadas colônias VC⁺ para semeadura em caldo trípico de soja (TSB), sob agitação a 220 rpm a 37°C (agitador *TE-420*, Tecnal), por aproximadamente 4 horas, para obtenção da fase logarítmica de crescimento. Após, as bactérias foram centrifugadas a 2.000 rpm por 5 minutos e o sedimento foi ressuspensos em meio de cultura celular (D-MEM). A concentração bacteriana foi ajustada em espectrofotômetro (*Spectronic 20*, Bausch & Lomb) para obtenção de aproximadamente 10⁸ bactérias por mililitro (λ = 625 nm, absorbância 0,01). A

concentração bacteriana foi confirmada por semeadura da diluição em ágar MC, com posterior contagem de colônias.

3.4 Cultura Celular

Células epiteliais do intestino humano da linhagem Caco-2 foram cultivadas em Dulbecco's modified Eagle's medium (D-MEM)- high glucose (Sigma-Aldrich), suplementado com 10% de soro fetal bovino (SFB), acrescido de solução antibiótica penicilina-streptomicina (100U/mL penicilina e 100 µg/mL estreptomicina). As células foram mantidas em estufa a 37°C, com atmosfera de 5% de CO₂ (GAILLARD *et al.*, 1997), em garrafa para cultura celular (75 cm²). Os estoques celulares foram mantidos em meio D-MEM, suplementado com 45% de SFB e 10% de dimetilsulfóxido (DMSO, Sigma-Aldrich, Reino Unido) e, posteriormente, armazenados a - 80°C.

3.5 Ensaio de formação das placas de lise: *Plaque assay*

As células Caco-2 foram cultivadas em placas com seis orifícios (TPP[®], Suíça) (1 x 10⁶ células/poço) até formação de uma monocamada diferenciada (10-14 dias). Para o ensaio de placas de lise, as células foram lavadas com solução salina tamponada (SST- 137 mM NaCl; 2,7 mM KCl; 10 mM Na₂HPO₄; 2 mM KH₂PO₄), acrescidas de 2 mL de DMEM sem antibiótico e infectadas com uma concentração de 1 x 10⁵ bactérias por poço para as amostras de EIEC e 1 x 10⁴ para M90T. As

células foram, então, incubadas em atmosfera de 5% de CO₂, a 37°C por 2 horas, tempo escolhido para promover a invasão bacteriana. Em seguida, as células foram lavadas 2 vezes com SST e incubadas em DMEM contendo 50 µg de gentamicina/mL, sob atmosfera de 5% de CO₂, a 37°C por 30 minutos. Logo após, o meio de cultura foi removido e um novo DMEM, agora acrescido de 5 µg de gentamicina/mL e 2% ágar bacteriológico, foi adicionado à monocamada delicadamente. As células foram novamente incubadas em atmosfera de 5% de CO₂, a 37°C, por 4 dias. Após incubação, adicionou-se ao meio semissólido 1,5 mL de uma solução de vermelho-neutro a 0,033% em SST. As células foram novamente incubadas, agora por 2 horas, sob atmosfera de 5% de CO₂, a 37°C. Em seguida, a solução de vermelho-neutro foi removida e as células foram re-incubadas na estufa, até a visualização das placas de lise (aproximadamente 2 horas). As placas de lise foram fotodocumentadas para posterior análise do diâmetro dos halos formados.

3.6 Gene *icsA*

3.6.1 Amplificação

Para a amplificação do gene *icsA*, foram desenhados 4 pares de iniciadores a partir da sequência de *Shigella flexneri* depositada no GenBank (número nc_002698.1) (Tabela 2). Os iniciadores mais externos foram desenhados baseados na região intergênica mais próxima do gene de interesse (Figura 5).

Tabela 2 - Iniciadores sintetizados a partir da sequência de nucleotídeos da cepa de *Shigella flexneri* depositada no GenBank (Nº nc_002698.1).

Gene	Sequência (5´-3´)	Tamanho do fragmento (bp)	Temperatura de Hibridização
<i>icsA1</i> (Vermelho)	<i>icsA1</i> -F TTGCGGTTTGAAGCAGACT	3575	62°C
	<i>icsA1</i> -R ATCAACACGCCCTGCATT		
<i>icsA2</i> (Verde)	<i>icsA2</i> -F ATGGAATGGATGCGTGGT	2622	62°C
	<i>icsA2</i> -R TCCAGCGTATGGTTGGGTA		
<i>icsA3</i> (Amarelo)	<i>icsA3</i> -F AATCAATAAGGGCACGTTTCG	1721	62°C
	<i>icsA3</i> -R TTTCGCTGAGCTGACCTGTA		
<i>icsA4</i> (Azul)	<i>icsA4</i> -F CTGGGCGCAGAAGGACTA	707	62°C
	<i>icsA4</i> -R CAATTTCCAGCCGGTCAG

Figura 5: Esquema dos iniciadores internos (Verde, Amarelo e Azul) e externos (Vermelho) do gene *icsA*.

Inicialmente, para a padronização da Reação Polimerase em Cadeia (PCR) foi realizado gradiente de temperatura (54°C, 58°C, 60°C e 62°C) e concentração de magnésio (1,5mM, 2,0mM e 2,5mM de Mg²⁺).

Cada fragmento alvo foi amplificado utilizando-se Platinum® Taq DNA Polymerase High Fidelity (Invitrogen, Carlsbad, Calif.) de acordo com as condições do fabricante, com uma concentração de magnésio de 2,5mM, sob as seguintes condições: um ciclo a 94°C por 5 min; a 94°C por 1 min; 62°C por 45s e 68°C por 4 min. A reação foi concluída com um ciclo a 68°C por 7 min. O produto da PCR foi

purificado com kit GFX PCR DNA and Gel Band Purification Kit (GE Healthcare) e quantificado por NanoDrop ND-1000 (Uniscience do Brasil, São Paulo.).

3.6.2 Sequenciamento

Os fragmentos purificados foram enviados ao Centro de Estudos do Genoma da Universidade de São Paulo - USP, Setor de Seqüenciamento de DNA. O seqüenciamento foi realizado utilizando-se o sistema ABI 3730 DNA Analyser (Applied Biosystems).

3.6.3 Análise do gene *icsA*

As sequências foram analisadas pelo software BioEdit (HALL, 1999), BLAST (ALTSCHUL *et al*, 1990), ExPASy (GASTEIGER *et al*, 2003) e *Phyre 2* (KELLEY & STERNBERG, 2009). Os resultados foram alinhados com as sequências de *Shigella flexneri* depositadas no GenBank (NC_004851.1 e NC_002698.1).

3.7 Gene *icsB*

3.7.1 Amplificação

Para a amplificação do gene *icsB*, foram utilizados dois pares de iniciadores (Tabela 3), segundo Moreno e colaboradores em 2007. Os iniciadores internos e externos foram utilizados para o seqüenciamento completo do gene *icsB* (Figura 6).

Tabela 3 - Iniciadores sintetizados a partir da cepa de *Shigella flexneri* depositada no GenBank (N° nc_002698).

Gene	Sequências (5'-3')	Tamanho do fragmento (pb)	Temperatura de hibridização
<i>icsB</i> completo	<i>ipgA</i> -F AGAGTAGTTAAGGATGAG	1900	55°C
	<i>ipgD</i> -R CCCCTTATTTCTTTCTCC		
<i>icsB</i> interno	<i>icsBi</i> -F GAAGATACAGAGCATGGA	1348	55°C
	<i>icsBi</i> -R GATCTGGCGATTTAAGAG

Figura 6 - Esquema dos iniciadores internos (verdes) e externos (vermelhos) do gene *icsB*.

O fragmento alvo foi amplificado pela Reação Polimerase em cadeia (PCR) sob as seguintes condições: um ciclo a 94°C por 5 min., seguido de 40 ciclos a 94°C por 45s, 55°C por 45s e 68°C por 2,5 min. e concluída com um ciclo a 68°C por 7 min. A reação da PCR foi realizada com Platinum® Taq DNA Polymerase High Fidelity (Invitrogen, Carlsbad, Calif.) de acordo com as condições do fabricante. O

produto da PCR foi purificado com kit GFX PCR DNA and Gel Band Purification Kit (GE Healthcare) e quantificado por NanoDrop ND-1000 (Uniscience do Brasil, São Paulo), e posteriormente, foi analisado por eletroforese em gel de agarose 1,0% em tampão TAE, aplicando-se 5 V/cm.

3.7.2 Clonagem

O produto purificado de cada amplificação foi clonado em plasmídeo vetor *pCR[®]2.1 TOPO* (Invitrogen) (Figura 6). Bactérias competentes *E.coli* DH5 α foram transformadas com este vetor utilizando-se o *Kit Original TA Cloning* (Invitrogen). Os clones foram selecionados em ágar LB contendo kanamicina 50 μ g/mL.

Figura 7: Representação esquemática do vetor de clonagem *pCR[®]2.1 TOPO*.

Clones kanamicina resistente, foram cultivados em meio TSB caldo com kanamicina 50ug/mL por 18 hs, após este período foi acrescido glicerol a uma concentração final de 10%, e mantidos a -80°C.

As colônias bacterianas contendo o inserto de interesse foram inoculadas em 5 mL de meio LB contendo 100 µg/ml de ampicilina, e incubadas a 37°C sob agitação constante de 200 rpm, durante 16 horas. Posteriormente o pellet bacteriano foi lisado para obtenção de DNA plasmidial pelo KIT DNA Purification System (PROMEGA, USA) de acordo com instruções do fabricante.

Para confirmar a presença do amplicon, estes foram digeridos com a enzima de restrição *EcoRI* (New England Lab), de acordo com o protocolo do fabricante. O produto da reação foi analisado por eletroforese em gel de agarose 1,0% em tampão TAE, aplicando 5 V/cm. Após incubação do gel em solução de brometo de etídio, a banda de DNA foi visualizada em transluminador-UV.

3.7.3 Sequenciamento

As amostras plasmidiais purificadas foram enviadas ao Centro de Estudos do Genoma da Universidade de São Paulo - USP, Setor de Seqüenciamento de DNA. O seqüenciamento foi realizado utilizando-se o sistema ABI 3730 DNA Analyser (Applied Biosystems).

3.7.4 Análise do gene *icsB*

As sequências foram analisadas pelo software BioEdit (HALL, 1999), BLAST (ALTSCHUL *et al*, 1990), ExPASy (GASTEIGER *et al*, 2003) e *Phyre 2* (KELLEY & STERNBERG, 2009). Os resultados foram alinhados com as sequências de *Shigella flexneri* depositadas no GenBank (NC_004851.1 e NC_002698.1).

4 RESULTADOS

Ensaio de Placas de Lise

Resultados anteriores de nosso grupo de pesquisa (MORENO et al., 2009) mostraram que EIEC O124:H⁻ dissemina menos do que *Shigella* M90T. Frente a esses resultados, surgiu a seguinte pergunta: diferentes sorotipos de EIEC se comportam da mesma forma ou seria somente o sorotipo O124:H⁻? Desta forma, analisamos a capacidade de disseminação de 11 sorotipos de EIEC, e comparamos os resultados com as amostras M90T e O124:H⁻, por ensaio de placas de lise.

O tamanho dos halos observados após a disseminação dos diferentes sorotipos de EIEC e de M90T mostra claramente a diferença de capacidade de disseminação das duas espécies, onde EIEC apresentou uma menor disseminação em relação à M90T. Dentro dos sorotipos de EIEC, O29:H⁻ e O124:H⁻ apresentaram maiores placas de lise, em contraste com O28:H⁻ e O112:H⁻ onde observou-se uma menor disseminação em relação aos outros sorotipos (Figura 8). Chama a atenção que O29:H⁻ e O124:H⁻, os sorotipos com maior disseminação intercelular, são os que possuem maior potencial para ativar a secreção de IL-8 em células Caco-2 (dados do nosso grupo de pesquisa).

As diferenças estatísticas entre os sorotipos de EIEC encontram-se no anexo (Anexo 3).

Figura 8 - Ensaio de placas de lise em células Caco-2. As células Caco-2 foram cultivadas em placas (6 poços) até a formação de uma monocamada (14 dias) e posteriormente, foram infectadas com uma concentração de 1×10^5 bactérias de diferentes sorotipos de EIEC e de 1×10^4 bactérias de M90T por poço. Após 2 horas de infecção, as células foram incubadas por 96 horas em presença de antibiótico, (A) para a análise fenotípica da disseminação bacteriana. (B) Gráfico representativo da média X e Y dos 20 halos formados para cada sorotipo de EIEC e 10 halos para M90T. Os resultados são representativos de um experimento. Análise estatística realizada pelo teste *One Way ANOVA*. (***) Diferença estatística entre a amostra M90T com o sorotipo O124:H⁻, e entre o sorotipo O124:H⁻ com os demais sorotipos de EIEC.

Seqüenciamento dos genes de disseminação – *icsA* e *icsB*

Após observarmos que EIEC, além de disseminar menos do que *Shigella* spp, também diverge quanto aos diferentes sorotipos, nos perguntamos se essa diferença de disseminação estaria relacionada com os fatores de virulência *lcsA* e *lcsB*. Desta forma, seqüenciamos os genes *icsA* e *icsB* de 11 sorotipos de EIEC.

A análise da sequência de nucleotídeos revelou que os genes *icsA* e *icsB* de EIEC possuem alta similaridade com a sequência de *S. flexneri* M90T (98 a 99%) (Anexos 1 e 2). Algumas trocas de nucleotídeos resultaram em mudanças de aminoácidos da cadeia peptídica tanto de *lcsA* (Tabela 4) quanto de *lcsB* (Tabela 5). Após a tradução, alinhamos essas sequências para uma melhor visualização das possíveis mudanças, utilizando o programa BioEdit (HALL, 1999). As sequências de aminoácidos de *lcsA* (Figura 8) e *lcsB* (Figura 9) apresentaram 99% de similaridade com as sequências de *S. flexneri*.

Tabela 4 - Relação das trocas de nucleotídeos do *icsA*, entre as *Shigella flexneri*, entre as EIEC e entre ambas espécies bacterianas.

Posição do Nucleotídeo	Nucleotídeo <i>Shigella 2a</i>	Nucleotídeo <i>Shigella 5a</i> M90T	Sorotipo EIEC	Troca de Nucleotídeo em relação à <i>S. flexneri</i> M90T
158	C	C	T	C - T
625	T	C	C	-
663	T	T	O143 - C O144 - C Outros* - T	T - C T - C -
725	G	G	O164 - T Outros* - G	G - T -
835	G	G	O112 - G Outros* - A	- G - A
1278	G	G	A	G - A
2174	T	C	O112 - C Outros* - T	- C - T
2767	A	A	G	A - G
2999	G	G	T	G - T
3229	T	T	G	T - G

(*) Sorotipos de EIEC, houve mudanças em apenas um ou outro sorotipo, sendo que o termo Outros, está relacionando aos demais sorotipos de EIEC.

Tabela 5 - Relação das trocas de nucleotídeos do *icsB*, entre as *Shigella flexneri*, entre as EIEC e entre ambas espécies bacterianas.

Posição do Nucleotídeo	Nucleotídeo <i>Shigella</i> 2a	Nucleotídeo <i>Shigella</i> 5a M90T	Sorotipo EIEC	Troca de Nucleotídeo em relação à <i>S. flexneri</i> M90T
5	T	G	G	-
88	A	A	O29 - A Outros - G	- A - G
197	A	A	C	A - C
228	T	T	G	T - G
288	C	C	T	C - T
300	C	C	T	C - T
306	C	C	T	C - T
314	G	G	A	G - A
393	T	T	O29 - T Outros - G	- T - G
438	T	T	C	T - C
579	G	G	A	G - A
606	C	G	C	G - C
805	C	C	T	C - T
853	A	A	C	A - C
1006	G	G	A	G - A
1071	A	A	G	A - G
1128	C	C	T	C - T
1170	A	A	C	A - C
1300	A	A	T	A - T
1444	A	A	G	A - G

(*) Sorotipos de EIEC, houve mudanças em apenas um ou outro sorotipo, sendo que o termo Outros, está relacionando aos demais sorotipos de EIEC.

						
	5	15	25	35	45	55
O28	MNQIHKFFCN	MTQCSQGGAG	ELPTVKEKTC	KLSFSPFVVG	ASLLLGPIA	FAIPLSGTQE
O29	MNQIHKFFCN	MTQCSQGGAG	ELPTVKEKTC	KLSFSPFVVG	ASLLLGPIA	FAIPLSGTQE
O112	MNQIHKFFCN	MTQCSQGGAG	ELPTVKEKTC	KLSFSPFVVG	ASLLLGPIA	FAIPLSGTQE
O124	MNQIHKFFCN	MTQCSQGGAG	ELPTVKEKTC	KLSFSPFVVG	ASLLLGPIA	FAIPLSGTQE
O124:H30	MNQIHKFFCN	MTQCSQGGAG	ELPTVKEKTC	KLSFSPFVVG	ASLLLGPIA	FAIPLSGTQE
O136	MNQIHKFFCN	MTQCSQGGAG	ELPTVKEKTC	KLSFSPFVVG	ASLLLGPIA	FAIPLSGTQE
O143	MNQIHKFFCN	MTQCSQGGAG	ELPTVKEKTC	KLSFSPFVVG	ASLLLGPIA	FAIPLSGTQE
O144	MNQIHKFFCN	MTQCSQGGAG	ELPTVKEKTC	KLSFSPFVVG	ASLLLGPIA	FAIPLSGTQE
O152	MNQIHKFFCN	MTQCSQGGAG	ELPTVKEKTC	KLSFSPFVVG	ASLLLGPIA	FAIPLSGTQE
O164	MNQIHKFFCN	MTQCSQGGAG	ELPTVKEKTC	KLSFSPFVVG	ASLLLGPIA	FAIPLSGTQE
O167	MNQIHKFFCN	MTQCSQGGAG	ELPTVKEKTC	KLSFSPFVVG	ASLLLGPIA	FAIPLSGTQE
SHIGELLA 2	MNQIHKFFCN	MTQCSQGGAG	ELPTVKEKTC	KLSFSPFVVG	ASLLLGPIA	FATPLSGTQE
SHIGELLA 5	MNQIHKFFCN	MTQCSQGGAG	ELPTVKEKTC	KLSFSPFVVG	ASLLLGPIA	FATPLSGTQE

						
	65	75	85	95	105	115
O28	LHFSEDNYEK	LLTPVDGLSP	LGAGEDGMDA	WYITSSNPSH	ASRTKLRLNS	DIMISAGHGG
O29	LHFSEDNYEK	LLTPVDGLSP	LGAGEDGMDA	WYITSSNPSH	ASRTKLRLNS	DIMISAGHGG
O112	LHFSEDNYEK	LLTPVDGLSP	LGAGEDGMDA	WYITSSNPSH	ASRTKLRLNS	DIMISAGHGG
O124	LHFSEDNYEK	LLTPVDGLSP	LGAGEDGMDA	WYITSSNPSH	ASRTKLRLNS	DIMISAGHGG
O124:H30	LHFSEDNYEK	LLTPVDGLSP	LGAGEDGMDA	WYITSSNPSH	ASRTKLRLNS	DIMISAGHGG
O136	LHFSEDNYEK	LLTPVDGLSP	LGAGEDGMDA	WYITSSNPSH	ASRTKLRLNS	DIMISAGHGG
O143	LHFSEDNYEK	LLTPVDGLSP	LGAGEDGMDA	WYITSSNPSH	ASRTKLRLNS	DIMISAGHGG
O144	LHFSEDNYEK	LLTPVDGLSP	LGAGEDGMDA	WYITSSNPSH	ASRTKLRLNS	DIMISAGHGG
O152	LHFSEDNYEK	LLTPVDGLSP	LGAGEDGMDA	WYITSSNPSH	ASRTKLRLNS	DIMISAGHGG
O164	LHFSEDNYEK	LLTPVDGLSP	LGAGEDGMDA	WYITSSNPSH	ASRTKLRLNS	DIMISAGHGG
O167	LHFSEDNYEK	LLTPVDGLSP	LGAGEDGMDA	WYITSSNPSH	ASRTKLRLNS	DIMISAGHGG
SHIGELLA 2	LHFSEDNYEK	LLTPVDGLSP	LGAGEDGMDA	WYITSSNPSH	ASRTKLRLNS	DIMISAGHGG
SHIGELLA 5	LHFSEDNYEK	LLTPVDGLSP	LGAGEDGMDA	WYITSSNPSH	ASRTKLRLNS	DIMISAGHGG

						
	125	135	145	155	165	175
O28	AGDNNDGNSC	GGNGGDSITG	SDLSIINQGM	ILGSGSGSGA	DHNGDGGEAV	TGDNLFIIING
O29	AGDNNDGNSC	GGNGGDSITG	SDLSIINQGM	ILGSGSGSGA	DHNGDGGEAV	TGDNLFIIING
O112	AGDNNDGNSC	GGNGGDSITG	SDLSIINQGM	ILGSGSGSGA	DHNGDGGEAV	TGDNLFIIING
O124	AGDNNDGNSC	GGNGGDSITG	SDLSIINQGM	ILGSGSGSGA	DHNGDGGEAV	TGDNLFIIING
O124:H30	AGDNNDGNSC	GGNGGDSITG	SDLSIINQGM	ILGSGSGSGA	DHNGDGGEAV	TGDNLFIIING
O136	AGDNNDGNSC	GGNGGDSITG	SDLSIINQGM	ILGSGSGSGA	DHNGDGGEAV	TGDNLFIIING
O143	AGDNNDGNSC	GGNGGDSITG	SDLSIINQGM	ILGSGSGSGA	DHNGDGGEAV	TGDNLFIIING
O144	AGDNNDGNSC	GGNGGDSITG	SDLSIINQGM	ILGSGSGSGA	DHNGDGGEAV	TGDNLFIIING
O152	AGDNNDGNSC	GGNGGDSITG	SDLSIINQGM	ILGSGSGSGA	DHNGDGGEAV	TGDNLFIIING
O164	AGDNNDGNSC	GGNGGDSITG	SDLSIINQGM	ILGSGSGSGA	DHNGDGGEAV	TGDNLFIIING
O167	AGDNNDGNSC	GGNGGDSITG	SDLSIINQGM	ILGSGSGSGA	DHNGDGGEAV	TGDNLFIIING
SHIGELLA 2	AGDNNDGNSC	GGNGGDSITG	SDLSIINQGM	ILGSGSGSGA	DHNGDGGEAV	TGDNLFIIING
SHIGELLA 5	AGDNNDGNSC	GGNGGDSITG	SDLSIINQGM	ILGSGSGSGA	DHNGDGGEAV	TGDNLFIIING

						
	185	195	205	215	225	235
O28	EIISGGHGGD	SYSDSDGGNG	GDAVTGVNLP	IINKGTISGG	NGGNNGEGD	GGNGGDAITG
O29	EIISGGHGGD	SYSDSDGGNG	GDAVTGVNLP	IINKGTISGG	NGGNNGEGD	GGNGGDAITG
O112	EIISGGHGGD	SYSDSDGGNG	GDAVTGVNLP	IINKGTISGG	NGGNNGEGD	GGNGGDAITG
O124	EIISGGHGGD	SYSDSDGGNG	GDAVTGVNLP	IINKGTISGG	NGGNNGEGD	GGNGGDAITG
O124:H30	EIISGGHGGD	SYSDSDGGNG	GDAVTGVNLP	IINKGTISGG	NGGNNGEGD	GGNGGDAITG
O136	EIISGGHGGD	SYSDSDGGNG	GDAVTGVNLP	IINKGTISGG	NGGNNGEGD	GGNGGDAITG
O143	EIISGGHGGD	SYSDSDGGNG	GDAVTGVNLP	IINKGTISGG	NGGNNGEGD	GGNGGDAITG
O144	EIISGGHGGD	SYSDSDGGNG	GDAVTGVNLP	IINKGTISGG	NGGNNGEGD	GGNGGDAITG
O152	EIISGGHGGD	SYSDSDGGNG	GDAVTGVNLP	IINKGTISGG	NGGNNGEGD	GGNGGDAITG
O164	EIISGGHGGD	SYSDSDGGNG	GDAVTGVNLP	IINKGTISGG	NGGNNGEGD	GGNGGDAITG
O167	EIISGGHGGD	SYSDSDGGNG	GDAVTGVNLP	IINKGTISGG	NGGNNGEGD	GGNGGDAITG
SHIGELLA 2	EIISGGHGGD	SYSDSDGGNG	GDAVTGVNLP	IINKGTISGG	NGGNNGEGD	GGNGGDAITG
SHIGELLA 5	EIISGGHGGD	SYSDSDGGNG	GDAVTGVNLP	IINKGTISGG	NGGNNGEGD	GGNGGDAITG

						
	245	255	265	275	285	295
O28	SSLSVINKGT	FAGGNGGAAY	GYGYDGYGNN	AITGDNLSII	NNGAILGGNG	GHWGDAINGS

O29	SSLSVINKGT	FAGGNGGAA	YGYDGYG	AITGDNLSII	NNGAILGGNG	GHWGDAINGS
O112	SSLSVINKGT	FAGGNGGAA	YGYDGYG	AITGDNLSVI	NNGAILGGNG	GHWGDAINGS
O124	SSLSVINKGT	FAGGNGGAA	YGYDGYG	AITGDNLSII	NNGAILGGNG	GHWGDAINGS
O124:H30	SSLSVINKGT	FAGGNGGAA	YGYDGYG	AITGDNLSII	NNGAILGGNG	GHWGDAINGS
O136	SSLSVINKGT	FAGGNGGAA	YGYDGYG	AITGDNLSII	NNGAILGGNG	GHWGDAINGS
O143	SSLSVINKGT	FAGGNGGAA	YGYDGYG	AITGDNLSII	NNGAILGGNG	GHWGDAINGS
O144	SSLSVINKGT	FAGGNGGAA	YGYDGYG	AITGDNLSII	NNGAILGGNG	GHWGDAINGS
O152	SSLSVINKGT	FAGGNGGAA	YGYDGYG	AITGDNLSII	NNGAILGGNG	GHWGDAINGS
O164	SILSVINKGT	FAGGNGGAA	YGYDGYG	AITGDNLSII	NNGAILGGNG	GHWGDAINGS
O167	SSLSVINKGT	FAGGNGGAA	YGYDGYG	AITGDNLSII	NNGAILGGNG	GHWGDAINGS
SHIGELLA 2	SSLSVINKGT	FAGGNGGAA	YGYDGYG	AITGDNLSVI	NNGAILGGNG	GHWGDAINGS
SHIGELLA 5	SSLSVINKGT	FAGGNGGAA	YGYDGYG	AITGDNLSVI	NNGAILGGNG	GHWGDAINGS

						
	305	315	325	335	345	355
O28	NMTIANSGYI	ISGKEDDGTQ	NVAGNAIHIT	GGNNSLILHE	GSVITGDVQV	NNSSLILKIIN
O29	NMTIANSGYI	ISGKEDDGTQ	NVAGNAIHIT	GGNNSLILHE	GSVITGDVQV	NNSSLILKIIN
O112	NMTIANSGYI	ISGKEDDGTQ	NVAGNAIHIT	GGNNSLILHE	GSVITGDVQV	NNSSLILKIIN
O124	NMTIANSGYI	ISGKEDDGTQ	NVAGNAIHIT	GGNNSLILHE	GSVITGDVQV	NNSSLILKIIN
O124:H30	NMTIANSGYI	ISGKEDDGTQ	NVAGNAIHIT	GGNNSLILHE	GSVITGDVQV	NNSSLILKIIN
O136	NMTIANSGYI	ISGKEDDGTQ	NVAGNAIHIT	GGNNSLILHE	GSVITGDVQV	NNSSLILKIIN
O143	NMTIANSGYI	ISGKEDDGTQ	NVAGNAIHIT	GGNNSLILHE	GSVITGDVQV	NNSSLILKIIN
O144	NMTIANSGYI	ISGKEDDGTQ	NVAGNAIHIT	GGNNSLILHE	GSVITGDVQV	NNSSLILKIIN
O152	NMTIANSGYI	ISGKEDDGTQ	NVAGNAIHIT	GGNNSLILHE	GSVITGDVQV	NNSSLILKIIN
O164	NMTIANSGYI	ISGKEDDGTQ	NVAGNAIHIT	GGNNSLILHE	GSVITGDVQV	NNSSLILKIIN
O167	NMTIANSGYI	ISGKEDDGTQ	NVAGNAIHIT	GGNNSLILHE	GSVITGDVQV	NNSSLILKIIN
SHIGELLA 2	NMTIANSGYI	ISGKEDDGTQ	NVAGNAIHIT	GGNNSLILHE	GSVITGDVQV	NNSSLILKIIN
SHIGELLA 5	NMTIANSGYI	ISGKEDDGTQ	NVAGNAIHIT	GGNNSLILHE	GSVITGDVQV	NNSSLILKIIN

						
	365	375	385	395	405	415
O28	NDYTGTPTI	EGDLCAGDCT	TVSLSGNKFT	VSGDVSFGEN	SSLNLAGISS	LEASGNMSFG
O29	NDYTGTPTI	EGDLCAGDCT	TVSLSGNKFT	VSGDVSFGEN	SSLNLAGISS	LEASGNMSFG
O112	NDYTGTPTI	EGDLCAGDCT	TVSLSGNKFT	VSGDVSFGEN	SSLNLAGISS	LEASGNMSFG
O124	NDYTGTPTI	EGDLCAGDCT	TVSLSGNKFT	VSGDVSFGEN	SSLNLAGISS	LEASGNMSFG
O124:H30	NDYTGTPTI	EGDLCAGDCT	TVSLSGNKFT	VSGDVSFGEN	SSLNLAGISS	LEASGNMSFG
O136	NDYTGTPTI	EGDLCAGDCT	TVSLSGNKFT	VSGDVSFGEN	SSLNLAGISS	LEASGNMSFG
O143	NDYTGTPTI	EGDLCAGDCT	TVSLSGNKFT	VSGDVSFGEN	SSLNLAGISS	LEASGNMSFG
O144	NDYTGTPTI	EGDLCAGDCT	TVSLSGNKFT	VSGDVSFGEN	SSLNLAGISS	LEASGNMSFG
O152	NDYTGTPTI	EGDLCAGDCT	TVSLSGNKFT	VSGDVSFGEN	SSLNLAGISS	LEASGNMSFG
O164	NDYTGTPTI	EGDLCAGDCT	TVSLSGNKFT	VSGDVSFGEN	SSLNLAGISS	LEASGNMSFG
O167	NDYTGTPTI	EGDLCAGDCT	TVSLSGNKFT	VSGDVSFGEN	SSLNLAGISS	LEASGNMSFG
SHIGELLA 2	NDYTGTPTI	EGDLCAGDCT	TVSLSGNKFT	VSGDVSFGEN	SSLNLAGISS	LEASGNMSFG
SHIGELLA 5	NDYTGTPTI	EGDLCAGDCT	TVSLSGNKFT	VSGDVSFGEN	SSLNLAGISS	LEASGNMSFG

						
	425	435	445	455	465	475
O28	NNVKVEAIIN	NWAQKDYKLL	SADKGITGFS	VSNISIIINPL	LTTGAIDYTK	SYISDQNKLI
O29	NNVKVEAIIN	NWAQKDYKLL	SADKGITGFS	VSNISIIINPL	LTTGAIDYTK	SYISDQNKLI
O112	NNVKVEAIIN	NWAQKDYKLL	SADKGITGFS	VSNISIIINPL	LTTGAIDYTK	SYISDQNKLI
O124	NNVKVEAIIN	NWAQKDYKLL	SADKGITGFS	VSNISIIINPL	LTTGAIDYTK	SYISDQNKLI
O124:H30	NNVKVEAIIN	NWAQKDYKLL	SADKGITGFS	VSNISIIINPL	LTTGAIDYTK	SYISDQNKLI
O136	NNVKVEAIIN	NWAQKDYKLL	SADKGITGFS	VSNISIIINPL	LTTGAIDYTK	SYISDQNKLI
O143	NNVKVEAIIN	NWAQKDYKLL	SADKGITGFS	VSNISIIINPL	LTTGAIDYTK	SYISDQNKLI
O144	NNVKVEAIIN	NWAQKDYKLL	SADKGITGFS	VSNISIIINPL	LTTGAIDYTK	SYISDQNKLI
O152	NNVKVEAIIN	NWAQKDYKLL	SADKGITGFS	VSNISIIINPL	LTTGAIDYTK	SYISDQNKLI
O164	NNVKVEAIIN	NWAQKDYKLL	SADKGITGFS	VSNISIIINPL	LTTGAIDYTK	SYISDQNKLI
O167	NNVKVEAIIN	NWAQKDYKLL	SADKGITGFS	VSNISIIINPL	LTTGAIDYTK	SYISDQNKLI
SHIGELLA 2	NNVKVEAIIN	NWAQKDYKLL	SADKGITGFS	VSNISIIINPL	LTTGAIDYTK	SYISDQNKLI
SHIGELLA 5	NNVKVEAIIN	NWAQKDYKLL	SADKGITGFS	VSNISIIINPL	LTTGAIDYTK	SYISDQNKLI

						
	485	495	505	515	525	535
O28	YGLSWNDTDG	DSHGFEFLKE	NAELTVSTIL	ADNLSHHNIN	SWDGKSLTKS	GEGTLILAEK
O29	YGLSWNDTDG	DSHGFEFLKE	NAELTVSTIL	ADNLSHHNIN	SWDGKSLTKS	GEGTLILAEK
O112	YGLSWNDTDG	DSHGFEFLKE	NAELTVSTIL	ADNLSHHNIN	SWDGKSLTKS	GEGTLILAEK
O124	YGLSWNDTDG	DSHGFEFLKE	NAELTVSTIL	ADNLSHHNIN	SWDGKSLTKS	GEGTLILAEK
O124:H30	YGLSWNDTDG	DSHGFEFLKE	NAELTVSTIL	ADNLSHHNIN	SWDGKSLTKS	GEGTLILAEK

0136	YGLSWNDTDG	DSHGFEFLKE	NAELTVSTIL	ADNLSHHNIN	SWDGKSLTKS	GEGTLILAEK
0143	YGLSWNDTDG	DSHGFEFLKE	NAELTVSTIL	ADNLSHHNIN	SWDGKSLTKS	GEGTLILAEK
0144	YGLSWNDTDG	DSHGFEFLKE	NAELTVSTIL	ADNLSHHNIN	SWDGKSLTKS	GEGTLILAEK
0152	YGLSWNDTDG	DSHGFEFLKE	NAELTVSTIL	ADNLSHHNIN	SWDGKSLTKS	GEGTLILAEK
0164	YGLSWNDTDG	DSHGFEFLKE	NAELTVSTIL	ADNLSHHNIN	SWDGKSLTKS	GEGTLILAEK
0167	YGLSWNDTDG	DSHGFEFLKE	NAELTVSTIL	ADNLSHHNIN	SWDGKSLTKS	GEGTLILAEK
SHIGELLA 2	YGLSWNDTDG	DSHGFEFLKE	NAELTVSTIL	ADNLSHHNIN	SWDGKSLTKS	GEGTLILAEK
SHIGELLA 5	YGLSWNDTDG	DSHGFEFLKE	NAELTVSTIL	ADNLSHHNIN	SWDGKSLTKS	GEGTLILAEK
						
	545	555	565	575	585	595
028	NTYSGFTNIN	AGILKMGTVE	AMTRTAGVIV	NKGATLNFSG	MNQTVNTLLN	SGTVLINNNIN
029	NTYSGFTNIN	AGILKMGTVE	AMTRTAGVIV	NKGATLNFSG	MNQTVNTLLN	SGTVLINNNIN
0112	NTYSGFTNIN	AGILKMGTVE	AMTRTAGVIV	NKGATLNFSG	MNQTVNTLLN	SGTVLINNNIN
0124	NTYSGFTNIN	AGILKMGTVE	AMTRTAGVIV	NKGATLNFSG	MNQTVNTLLN	SGTVLINNNIN
0124:H30	NTYSGFTNIN	AGILKMGTVE	AMTRTAGVIV	NKGATLNFSG	MNQTVNTLLN	SGTVLINNNIN
0136	NTYSGFTNIN	AGILKMGTVE	AMTRTAGVIV	NKGATLNFSG	MNQTVNTLLN	SGTVLINNNIN
0143	NTYSGFTNIN	AGILKMGTVE	AMTRTAGVIV	NKGATLNFSG	MNQTVNTLLN	SGTVLINNNIN
0144	NTYSGFTNIN	AGILKMGTVE	AMTRTAGVIV	NKGATLNFSG	MNQTVNTLLN	SGTVLINNNIN
0152	NTYSGFTNIN	AGILKMGTVE	AMTRTAGVIV	NKGATLNFSG	MNQTVNTLLN	SGTVLINNNIN
0164	NTYSGFTNIN	AGILKMGTVE	AMTRTAGVIV	NKGATLNFSG	MNQTVNTLLN	SGTVLINNNIN
0167	NTYSGFTNIN	AGILKMGTVE	AMTRTAGVIV	NKGATLNFSG	MNQTVNTLLN	SGTVLINNNIN
SHIGELLA 2	NTYSGFTNIN	AGILKMGTVE	AMTRTAGVIV	NKGATLNFSG	MNQTVNTLLN	SGTVLINNNIN
SHIGELLA 5	NTYSGFTNIN	AGILKMGTVE	AMTRTAGVIV	NKGATLNFSG	MNQTVNTLLN	SGTVLINNNIN
						
	605	615	625	635	645	655
028	APFLPDPVIV	TGNMTLEKNG	HVILNNSSSN	VGQTYVQKGN	WHGKGGILSL	GAVLGNDNSK
029	APFLPDPVIV	TGNMTLEKNG	HVILNNSSSN	VGQTYVQKGN	WHGKGGILSL	GAVLGNDNSK
0112	APFLPDPVIV	TGNMTLEKNG	HVILNNSSSN	VGQTYVQKGN	WHGKGGILSL	GAVLGNDNSK
0124	APFLPDPVIV	TGNMTLEKNG	HVILNNSSSN	VGQTYVQKGN	WHGKGGILSL	GAVLGNDNSK
0124:H30	APFLPDPVIV	TGNMTLEKNG	HVILNNSSSN	VGQTYVQKGN	WHGKGGILSL	GAVLGNDNSK
0136	APFLPDPVIV	TGNMTLEKNG	HVILNNSSSN	VGQTYVQKGN	WHGKGGILSL	GAVLGNDNSK
0143	APFLPDPVIV	TGNMTLEKNG	HVILNNSSSN	VGQTYVQKGN	WHGKGGILSL	GAVLGNDNSK
0144	APFLPDPVIV	TGNMTLEKNG	HVILNNSSSN	VGQTYVQKGN	WHGKGGILSL	GAVLGNDNSK
0152	APFLPDPVIV	TGNMTLEKNG	HVILNNSSSN	VGQTYVQKGN	WHGKGGILSL	GAVLGNDNSK
0164	APFLPDPVIV	TGNMTLEKNG	HVILNNSSSN	VGQTYVQKGN	WHGKGGILSL	GAVLGNDNSK
0167	APFLPDPVIV	TGNMTLEKNG	HVILNNSSSN	VGQTYVQKGN	WHGKGGILSL	GAVLGNDNSK
SHIGELLA 2	APFLPDPVIV	TGNMTLEKNG	HVILNNSSSN	VGQTYVQKGN	WHGKGGILSL	GAVLGNDNSK
SHIGELLA 5	APFLPDPVIV	TGNMTLEKNG	HVILNNSSSN	VGQTYVQKGN	WHGKGGILSL	GAVLGNDNSK
						
	665	675	685	695	705	715
028	TDRLEIAGHA	SGITYVAVTN	EGGSGDKTLE	GVQIISTDSS	DKNAFIQKGR	IVAGSYDYRL
029	TDRLEIAGHA	SGITYVAVTN	EGGSGDKTLE	GVQIISTDSS	DKNAFIQKGR	IVAGSYDYRL
0112	TDRLEIAGHA	SGITYVAVTN	EGGSGDKTLE	GVQIISTDSS	DKNAFIQKGR	IVAGSYDYRL
0124	TDRLEIAGHA	SGITYVAVTN	EGGSGDKTLE	GVQIISTDSS	DKNAFIQKGR	IVAGSYDYRL
0124:H30	TDRLEIAGHA	SGITYVAVTN	EGGSGDKTLE	GVQIISTDSS	DKNAFIQKGR	IVAGSYDYRL
0136	TDRLEIAGHA	SGITYVAVTN	EGGSGDKTLE	GVQIISTDSS	DKNAFIQKGR	IVAGSYDYRL
0143	TDRLEIAGHA	SGITYVAVTN	EGGSGDKTLE	GVQIISTDSS	DKNAFIQKGR	IVAGSYDYRL
0144	TDRLEIAGHA	SGITYVAVTN	EGGSGDKTLE	GVQIISTDSS	DKNAFIQKGR	IVAGSYDYRL
0152	TDRLEIAGHA	SGITYVAVTN	EGGSGDKTLE	GVQIISTDSS	DKNAFIQKGR	IVAGSYDYRL
0164	TDRLEIAGHA	SGITYVAVTN	EGGSGDKTLE	GVQIISTDSS	DKNAFIQKGR	IVAGSYDYRL
0167	TDRLEIAGHA	SGITYVAVTN	EGGSGDKTLE	GVQIISTDSS	DKNAFIQKGR	IVAGSYDYRL
SHIGELLA 2	TDRLEIAGHA	SGITYVAVTN	EGGSGDKTLE	GVQIISTDSS	DKNAFIQKGR	IVAGSYDYRL
SHIGELLA 5	TDRLEIAGHA	SGITYVAVTN	EGGSGDKTLE	GVQIISTDSS	DKNAFIQKGR	IVAGSYDYRL
						
	725	735	745	755	765	775
028	KQGTVSGLNT	NKWYLT SQMD	NQESKQMSNQ	ESTQMSSRRA	SSQLVSSLNL	GEYSIHTWRP
029	KQGTVSGLNT	NKWYLT SQMD	NQESKQMSNQ	ESTQMSSRRA	SSQLVSSLNL	GEYSIHTWRP
0112	KQGTASGLNT	NKWYLT SQMD	NQESKQMSNQ	ESTQMSSRRA	SSQLVSSLNL	GEYSIHTWRP
0124	KQGTVSGLNT	NKWYLT SQMD	NQESKQMSNQ	ESTQMSSRRA	SSQLVSSLNL	GEYSIHTWRP
0124:H30	KQGTVSGLNT	NKWYLT SQMD	NQESKQMSNQ	ESTQMSSRRA	SSQLVSSLNL	GEYSIHTWRP
0136	KQGTVSGLNT	NKWYLT SQMD	NQESKQMSNQ	ESTQMSSRRA	SSQLVSSLNL	GEYSIHTWRP
0143	KQGTVSGLNT	NKWYLT SQMD	NQESKQMSNQ	ESTQMSSRRA	SSQLVSSLNL	GEYSIHTWRP
0144	KQGTVSGLNT	NKWYLT SQMD	NQESKQMSNQ	ESTQMSSRRA	SSQLVSSLNL	GEYSIHTWRP
0152	KQGTVSGLNT	NKWYLT SQMD	NQESKQMSNQ	ESTQMSSRRA	SSQLVSSLNL	GEYSIHTWRP

O164	KQGTVSGLNT	NKWYLT SQMD	NQESKQMSNQ	ESTQMSSRRA	SSQLVSSLNL	GEGSIHTWRP
O167	KQGTVSGLNT	NKWYLT SQMD	NQESKQMSNQ	ESTQMSSRRA	SSQLVSSLNL	GEGSIHTWRP
SHIGELLA 2	KQGTVSGLNT	NKWYLT SQMD	NQESKQMSNQ	ESTQMSSRRA	SSQLVSSLNL	GEGSIHTWRP
SHIGELLA 5	KQGTASGLNT	NKWYLT SQMD	NQESKQMSNQ	ESTQMSSRRA	SSQLVSSLNL	GEGSIHTWRP
						
	785	795	805	815	825	835
O28	EAGSYIANLI	AMNTMFSPSL	YDRHGSTIVD	PTTGQLSETT	MWIRTVGGHN	EHNLA DRQLK
O29	EAGSYIANLI	AMNTMFSPSL	YDRHGSTIVD	PTTGQLSETT	MWIRTVGGHN	EHNLA DRQLK
O112	EAGSYIANLI	AMNTMFSPSL	YDRHGSTIVD	PTTGQLSETT	MWIRTVGGHN	EHNLA DRQLK
O124	EAGSYIANLI	AMNTMFSPSL	YDRHGSTIVD	PTTGQLSETT	MWIRTVGGHN	EHNLA DRQLK
O124:H30	EAGSYIANLI	AMNTMFSPSL	YDRHGSTIVD	PTTGQLSETT	MWIRTVGGHN	EHNLA DRQLK
O136	EAGSYIANLI	AMNTMFSPSL	YDRHGSTIVD	PTTGQLSETT	MWIRTVGGHN	EHNLA DRQLK
O143	EAGSYIANLI	AMNTMFSPSL	YDRHGSTIVD	PTTGQLSETT	MWIRTVGGHN	EHNLA DRQLK
O144	EAGSYIANLI	AMNTMFSPSL	YDRHGSTIVD	PTTGQLSETT	MWIRTVGGHN	EHNLA DRQLK
O152	EAGSYIANLI	AMNTMFSPSL	YDRHGSTIVD	PTTGQLSETT	MWIRTVGGHN	EHNLA DRQLK
O164	EAGSYIANLI	AMNTMFSPSL	YDRHGSTIVD	PTTGQLSETT	MWIRTVGGHN	EHNLA DRQLK
O167	EAGSYIANLI	AMNTMFSPSL	YDRHGSTIVD	PTTGQLSETT	MWIRTVGGHN	EHNLA DRQLK
SHIGELLA 2	EAGSYIANLI	AMNTMFSPSL	YDRHGSTIVD	PTTGQLSETT	MWIRTVGGHN	EHNLA DRQLK
SHIGELLA 5	EAGSYIANLI	AMNTMFSPSL	YDRHGSTIVD	PTTGQLSETT	MWIRTVGGHN	EHNLA DRQLK
						
	845	855	865	875	885	895
O28	TTANRMVYQI	GGDILKTNFT	DHDGLHVGIM	GAYGYQDSKT	HNKYTSYSSR	GTVSGYTAGL
O29	TTANRMVYQI	GGDILKTNFT	DHDGLHVGIM	GAYGYQDSKT	HNKYTSYSSR	GTVSGYTAGL
O112	TTANRMVYQI	GGDILKTNFT	DHDGLHVGIM	GAYGYQDSKT	HNKYTSYSSR	GTVSGYTAGL
O124	TTANRMVYQI	GGDILKTNFT	DHDGLHVGIM	GAYGYQDSKT	HNKYTSYSSR	GTVSGYTAGL
O124:H30	TTANRMVYQI	GGDILKTNFT	DHDGLHVGIM	GAYGYQDSKT	HNKYTSYSSR	GTVSGYTAGL
O136	TTANRMVYQI	GGDILKTNFT	DHDGLHVGIM	GAYGYQDSKT	HNKYTSYSSR	GTVSGYTAGL
O143	TTANRMVYQI	GGDILKTNFT	DHDGLHVGIM	GAYGYQDSKT	HNKYTSYSSR	GTVSGYTAGL
O144	TTANRMVYQI	GGDILKTNFT	DHDGLHVGIM	GAYGYQDSKT	HNKYTSYSSR	GTVSGYTAGL
O152	TTANRMVYQI	GGDILKTNFT	DHDGLHVGIM	GAYGYQDSKT	HNKYTSYSSR	GTVSGYTAGL
O164	TTANRMVYQI	GGDILKTNFT	DHDGLHVGIM	GAYGYQDSKT	HNKYTSYSSR	GTVSGYTAGL
O167	TTANRMVYQI	GGDILKTNFT	DHDGLHVGIM	GAYGYQDSKT	HNKYTSYSSR	GTVSGYTAGL
SHIGELLA 2	TTANRMVYQI	GGDILKTNFT	DHDGLHVGIM	GAYGYQDSKT	HNKYTSYSSR	GTVSGYTAGL
SHIGELLA 5	TTANRMVYQI	GGDILKTNFT	DHDGLHVGIM	GAYGYQDSKT	HNKYTSYSSR	GTVSGYTAGL
						
	905	915	925	935	945	955
O28	YSSWFQDEKE	RTGLYMDAWL	QYGWFNNTVK	GDGLTGEKYS	SKGITGALEA	GYIYPTIRWT
O29	YSSWFQDEKE	RTGLYMDAWL	QYGWFNNTVK	GDGLTGEKYS	SKGITGALEA	GYIYPTIRWT
O112	YSSWFQDEKE	RTGLYMDAWL	QYGWFNNTVK	GDGLTGEKYS	SKGITGALEA	GYIYPTIRWT
O124	YSSWFQDEKE	RTGLYMDAWL	QYGWFNNTVK	GDGLTGEKYS	SKGITGALEA	GYIYPTIRWT
O124:H30	YSSWFQDEKE	RTGLYMDAWL	QYGWFNNTVK	GDGLTGEKYS	SKGITGALEA	GYIYPTIRWT
O136	YSSWFQDEKE	RTGLYMDAWL	QYGWFNNTVK	GDGLTGEKYS	SKGITGALEA	GYIYPTIRWT
O143	YSSWFQDEKE	RTGLYMDAWL	QYGWFNNTVK	GDGLTGEKYS	SKGITGALEA	GYIYPTIRWT
O144	YSSWFQDEKE	RTGLYMDAWL	QYGWFNNTVK	GDGLTGEKYS	SKGITGALEA	GYIYPTIRWT
O152	YSSWFQDEKE	RTGLYMDAWL	QYGWFNNTVK	GDGLTGEKYS	SKGITGALEA	GYIYPTIRWT
O164	YSSWFQDEKE	RTGLYMDAWL	QYGWFNNTVK	GDGLTGEKYS	SKGITGALEA	GYIYPTIRWT
O167	YSSWFQDEKE	RTGLYMDAWL	QYGWFNNTVK	GDGLTGEKYS	SKGITGALEA	GYIYPTIRWT
SHIGELLA 2	YSSWFQDEKE	RTGLYMDAWL	QYSWFNNTVK	GDGLTGEKYS	SKGITGALEA	GYIYPTIRWT
SHIGELLA 5	YSSWFQDEKE	RTGLYMDAWL	QYSWFNNTVK	GDGLTGEKYS	SKGITGALEA	GYIYPTIRWT
						
	965	975	985	995	1005	1015
O28	AHNNIDNALY	LNPQVQITRH	GVKANDYIEH	NGTMVTSSGV	NNIQAKLGLR	TSLISQSCID
O29	AHNNIDNALY	LNPQVQITRH	GVKANDYIEH	NGTMVTSSGV	NNIQAKLGLR	TSLISQSCID
O112	AHNNIDNALY	LNPQVQITRH	GVKANDYIEH	NGTMVTSSGV	NNIQAKLGLR	TSLISQSCID
O124	AHNNIDNALY	LNPQVQITRH	GVKANDYIEH	NGTMVTSSGV	NNIQAKLGLR	TSLISQSCID
O124:H30	AHNNIDNALY	LNPQVQITRH	GVKANDYIEH	NGTMVTSSGV	NNIQAKLGLR	TSLISQSCID
O136	AHNNIDNALY	LNPQVQITRH	GVKANDYIEH	NGTMVTSSGV	NNIQAKLGLR	TSLISQSCID
O143	AHNNIDNALY	LNPQVQITRH	GVKANDYIEH	NGTMVTSSGV	NNIQAKLGLR	TSLISQSCID
O144	AHNNIDNALY	LNPQVQITRH	GVKANDYIEH	NGTMVTSSGV	NNIQAKLGLR	TSLISQSCID
O152	AHNNIDNALY	LNPQVQITRH	GVKANDYIEH	NGTMVTSSGV	NNIQAKLGLR	TSLISQSCID
O164	AHNNIDNALY	LNPQVQITRH	GVKANDYIEH	NGTMVTSSGV	NNIQAKLGLR	TSLISQSCID
O167	AHNNIDNALY	LNPQVQITRH	GVKANDYIEH	NGTMVTSSGV	NNIQAKLGLR	TSLISQSCID
SHIGELLA 2	AHNNIDNALY	LNPQVQITRH	GVKANDYIEH	NGTMVTSSGG	NNIQAKLGLR	TSLISQSCID
SHIGELLA 5	AHNNIDNALY	LNPQVQITRH	GVKANDYIEH	NGTMVTSSGG	NNIQAKLGLR	TSLISQSCID

						
	1025	1035	1045	1055	1065	1075
O28	KETLRKFEPF	LEVNWKWSSK	QYGVIMNGMS	NHQIGNRNVI	ELKTGVGGRL	ADNLSIGGNV
O29	KETLRKFEPF	LEVNWKWSSK	QYGVIMNGMS	NHQIGNRNVI	ELKTGVGGRL	ADNLSIGGNV
O112	KETLRKFEPF	LEVNWKWSSK	QYGVIMNGMS	NHQIGNRNVI	ELKTGVGGRL	ADNLSIGGNV
O124	KETLRKFEPF	LEVNWKWSSK	QYGVIMNGMS	NHQIGNRNVI	ELKTGVGGRL	ADNLSIGGNV
O124:H30	KETLRKFEPF	LEVNWKWSSK	QYGVIMNGMS	NHQIGNRNVI	ELKTGVGGRL	ADNLSIGGNV
O136	KETLRKFEPF	LEVNWKWSSK	QYGVIMNGMS	NHQIGNRNVI	ELKTGVGGRL	ADNLSIGGNV
O143	KETLRKFEPF	LEVNWKWSSK	QYGVIMNGMS	NHQIGNRNVI	ELKTGVGGRL	ADNLSIGGNV
O144	KETLRKFEPF	LEVNWKWSSK	QYGVIMNGMS	NHQIGNRNVI	ELKTGVGGRL	ADNLSIGGNV
O152	KETLRKFEPF	LEVNWKWSSK	QYGVIMNGMS	NHQIGNRNVI	ELKTGVGGRL	ADNLSIGGNV
O164	KETLRKFEPF	LEVNWKWSSK	QYGVIMNGMS	NHQIGNRNVI	ELKTGVGGRL	ADNLSIGGNV
O167	KETLRKFEPF	LEVNWKWSSK	QYGVIMNGMS	NHQIGNRNVI	ELKTGVGGRL	ADNLSIGGNV
SHIGELLA 2	KETLRKFEPF	LEVNWKWSSK	QYGVIMNGMS	NHQIGNRNVI	ELKTGVGGRL	ADNLSIWGNV
SHIGELLA 5	KETLRKFEPF	LEVNWKWSSK	QYGVIMNGMS	NHQIGNRNVI	ELKTGVGGRL	ADNLSIWGNV
			..			
	1085	1095				
O28	SQQLGNNSYR	DTQGILGVKY	TF			
O29	SQQLGNNSYR	DTQGILGVKY	TF			
O112	SQQLGNNSYR	DTQGILGVKY	TF			
O124	SQQLGNNSYR	DTQGILGVKY	TF			
O124:H30	SQQLGNNSYR	DTQGILGVKY	TF			
O136	SQQLGNNSYR	DTQGILGVKY	TF			
O143	SQQLGNNSYR	DTQGILGVKY	TF			
O144	SQQLGNNSYR	DTQGILGVKY	TF			
O152	SQQLGNNSYR	DTQGILGVKY	TF			
O164	SQQLGNNSYR	DTQGILGVKY	TF			
O167	SQQLGNNSYR	DTQGILGVKY	TF			
SHIGELLA 2	SQQLGNNSYR	DTQGILGVKY	TF			
SHIGELLA 5	SQQLGNNSYR	DTQGILGVKY	TF			

Figura 9 - Alinhamento da sequência de aminoácidos da proteína lcsA dos diferentes sorotipos de EIEC e de *Shigella flexneri* 2A e 5A. Os pontos grifados em verde apresentam a troca de aminoácidos.

						
	5	15	25	35	45	55
O28	MSLKISNFID	ASNTKGPIRV	EDTEHGPIIV	AQKFNLKDLF	FRTLSTINAK	INSQILNEQL
O29	MSLKISNFID	ASNTKGPIRV	EDTEHGPIIL	AQKFNLKDLF	FRTLSTINAK	INSQILNEQL
O112	MSLKISNFID	ASNTKGPIRV	EDTEHGPIIV	AQKFNLKDLF	FRTLSTINAK	INSQILNEQL
O124	MSLKISNFID	ASNTKGPIRV	EDTEHGPIIV	AQKFNLKDLF	FRTLSTINAK	INSQILNEQL
O124:H30	MSLKISNFID	ASNTKGPIRV	EDTEHGPIIV	AQKFNLKDLF	FRTLSTINAK	INSQILNEQL
O136	MSLKISNFID	ASNTKGPIRV	EDTEHGPIIV	AQKFNLKDLF	FRTLSTINAK	INSQILNEQL
O143	MSLKISNFID	ASNTKGPIRV	EDTEHGPIIV	AQKFNLKDLF	FRTLSTINAK	INSQILNEQL
O144	MSLKISNFID	ASNTKGPIRV	EDTEHGPIIV	AQKFNLKDLF	FRTLSTINAK	INSQILNEQL
O152	MSLKISNFID	ASNTKGPIRV	EDTEHGPIIV	AQKFNLKDLF	FRTLSTINAK	INSQILNEQL
O164	MSLKISNFID	ASNTKGPIRV	EDTEHGPIIV	AQKFNLKDLF	FRTLSTINAK	INSQILNEQL
O167	MSLKISNFID	ASNTKGPIRV	EDTEHGPIIV	AQKFNLKDLF	FRTLSTINAK	INSQILNEQL
SHIGELLA 2	MILKISNFID	ASNTKGPIRV	EDTEHGPIIL	AQKFNLKDLF	FRTLSTINAK	INSQILNEQL
SHIGELLA 5	MSLKISNFID	ASNTKGPIRV	EDTEHGPIIL	AQKFNLKDLF	FRTLSTINAK	INSQILNEQL
						
	65	75	85	95	105	115
O28	KNYRLANQKS	LLLFLKTLAS	EKSAESAFAA	YEAANKSIQH	SFTGKDIKLM	LNTAERFHGI
O29	KNYRLANQKS	LLLFLKTLAS	EKSAESAFAA	YEAANKSIQH	SFTGKDIKLM	LNTAERFHGI
O112	KNYRLANQKS	LLLFLKTLAS	EKSAESAFAA	YEAANKSIQH	SFTGKDIKLM	LNTAERFHGI
O124	KNYRLANQKS	LLLFLKTLAS	EKSAESAFAA	YEAANKSIQH	SFTGKDIKLM	LNTAERFHGI
O124:H30	KNYRLANQKS	LLLFLKTLAS	EKSAESAFAA	YEAANKSIQH	SFTGKDIKLM	LNTAERFHGI
O136	KNYRLANQKS	LLLFLKTLAS	EKSAESAFAA	YEAANKSIQH	SFTGKDIKLM	LNTAERFHGI
O143	KNYRLANQKS	LLLFLKTLAS	EKSAESAFAA	YEAANKSIQH	SFTGKDIKLM	LNTAERFHGI

O144	KNYRLANQKS	LLLFLKTLAS	EKSAESAFAA	YEAAKNSIQH	SFTGKDIKLM	LNTAERFHGI
O152	KNYRLANQKS	LLLFLKTLAS	EKSAESAFAA	YEAAKNSIQH	SFTGKDIKLM	LNTAERFHGI
O164	KNYRLANQKS	LLLFLKTLAS	EKSAESAFAA	YEAAKNSIQH	SFTGKDIKLM	LNTAERFHGI
O167	KNYRLANQKS	LLLFLKTLAS	EKSAESAFAA	YEAAKNSIQH	SFTGKDIKLM	LNTAERFHGI
SHIGELLA 2	KNYRLANQKS	LLLFLNLTAS	EKSAESAFAA	YEAAKNSIQH	SFTGRDIKLM	LNTAERFHGI
SHIGELLA 5	KNYRLANQKS	LLLFLNLTAS	EKSAESAFAA	YEAAKNSIQH	SFTGRDIKLM	LNTAERFHGI
						
	125	135	145	155	165	175
O28	GTAKNLERHL	VFRCWGNRGI	THLGHTSISI	KNNLLQEPTH	TYLSWYPGGN	VTKDTEINYL
O29	GTAKNLERHL	VFRCWGNRGI	THLGHTSISI	KNNLLQEPTH	TYLSWYPGGN	VTKDTEINYL
O112	GTAKNLERHL	VFRCWGNRGI	THLGHTSISI	KNNLLQEPTH	TYLSWYPGGN	VTKDTEINYL
O124	GTAKNLERHL	VFRCWGNRGI	THLGHTSISI	KNNLLQEPTH	TYLSWYPGGN	VTKDTEINYL
O124:H30	GTAKNLERHL	VFRCWGNRGI	THLGHTSISI	KNNLLQEPTH	TYLSWYPGGN	VTKDTEINYL
O136	GTAKNLERHL	VFRCWGNRGI	THLGHTSISI	KNNLLQEPTH	TYLSWYPGGN	VTKDTEINYL
O143	GTAKNLERHL	VFRCWGNRGI	THLGHTSISI	KNNLLQEPTH	TYLSWYPGGN	VTKDTEINYL
O144	GTAKNLERHL	VFRCWGNRGI	THLGHTSISI	KNNLLQEPTH	TYLSWYPGGN	VTKDTEINYL
O152	GTAKNLERHL	VFRCWGNRGI	THLGHTSISI	KNNLLQEPTH	TYLSWYPGGN	VTKDTEINYL
O164	GTAKNLERHL	VFRCWGNRGI	THLGHTSISI	KNNLLQEPTH	TYLSWYPGGN	VTKDTEINYL
O167	GTAKNLERHL	VFRCWGNRGI	THLGHTSISI	KNNLLQEPTH	TYLSWYPGGN	VTKDTEINYL
SHIGELLA 2	GTAKNLERHL	VFRCWGNRGI	THLGHTSISI	KNNLLQEPTH	TYLSWYPGGN	VTKDTEINYL
SHIGELLA 5	GTAKNLERHL	VFRCWGNRGI	THLGHTSISI	KNNLLQEPTH	TYLSWYPGGN	VTKDTEINYL
						
	185	195	205	215	225	235
O28	FEKRSYGSVD	TYKQDKLNMI	SDQTAERLDA	GQEVNLLNS	KQDQNNKKI	FFPRANQKKD
O29	FEKRSYGSVD	TYKQDKLNMI	SDQTAERLDA	GQEVNLLNS	KQDQNNKKI	FFPRANQKKD
O112	FEKRSYGSVD	TYKQDKLNMI	SDQTAERLDA	GQEVNLLNS	KQDQNNKKI	FFPRANQKKD
O124	FEKRSYGSVD	TYKQDKLNMI	SDQTAERLDA	GQEVNLLNS	KQDQNNKKI	FFPRANQKKD
O124:H30	FEKRSYGSVD	TYKQDKLNMI	SDQTAERLDA	GQEVNLLNS	KQDQNNKKI	FFPRANQKKD
O136	FEKRSYGSVD	TYKQDKLNMI	SDQTAERLDA	GQEVNLLNS	KQDQNNKKI	FFPRANQKKD
O143	FEKRSYGSVD	TYKQDKLNMI	SDQTAERLDA	GQEVNLLNS	KQDQNNKKI	FFPRANQKKD
O144	FEKRSYGSVD	TYKQDKLNMI	SDQTAERLDA	GQEVNLLNS	KQDQNNKKI	FFPRANQKKD
O152	FEKRSYGSVD	TYKQDKLNMI	SDQTAERLDA	GQEVNLLNS	KQDQNNKKI	FFPRANQKKD
O164	FEKRSYGSVD	TYKQDKLNMI	SDQTAERLDA	GQEVNLLNS	KQDQNNKKI	FFPRANQKKD
O167	FEKRSYGSVD	TYKQDKLNMI	SDQTAERLDA	GQEVNLLNS	KQDQNNKKI	FFPRANQKKD
SHIGELLA 2	FEKRSYGSVD	TYKQDKLNMI	SDQTAERLDA	GQEVNLLNS	KQDQNNKKI	FFPRANQKKD
SHIGELLA 5	FEKRSYGSVD	TYKQDKLNMI	SEQTAERLDA	GQEVNLLNS	KQDQNNKKI	FFPRANQKKD
						
	245	255	265	275	285	295
O28	PYGYWGSAD	KVYIPLSGDN	KTCDGKISYN	LFGLDETNS	KFICQKKADA	FRQLANYKLI
O29	PYGYWGSAD	KVYIPLSGDN	KTCDGKISYN	LFGLDETNS	KFICQKKADA	FRQLANYKLI
O112	PYGYWGSAD	KVYIPLSGDN	KTCDGKISYN	LFGLDETNS	KFICQKKADA	FRQLANYKLI
O124	PYGYWGSAD	KVYIPLSGDN	KTCDGKISYN	LFGLDETNS	KFICQKKADA	FRQLANYKLI
O124:H30	PYGYWGSAD	KVYIPLSGDN	KTCDGKISYN	LFGLDETNS	KFICQKKADA	FRQLANYKLI
O136	PYGYWGSAD	KVYIPLSGDN	KTCDGKISYN	LFGLDETNS	KFICQKKADA	FRQLANYKLI
O143	PYGYWGSAD	KVYIPLSGDN	KTCDGKISYN	LFGLDETNS	KFICQKKADA	FRQLANYKLI
O144	PYGYWGSAD	KVYIPLSGDN	KTCDGKISYN	LFGLDETNS	KFICQKKADA	FRQLANYKLI
O152	PYGYWGSAD	KVYIPLSGDN	KTCDGKISYN	LFGLDETNS	KFICQKKADA	FRQLANYKLI
O164	PYGYWGSAD	KVYIPLSGDN	KTCDGKISYN	LFGLDETNS	KFICQKKADA	FRQLANYKLI
O167	PYGYWGSAD	KVYIPLSGDN	KTCDGKISYN	LFGLDETNS	KFICQKKADA	FRQLANYKLI
SHIGELLA 2	PYGYWGSAD	KVYIPLSGDN	KTCDGKISHN	LFGLDETNS	KFICKKKADA	FRQLANYKLI
SHIGELLA 5	PYGYWGSAD	KVYIPLSGDN	KTCDGKISHN	LFGLDETNS	KFICKKKADA	FRQLANYKLI
						
	305	315	325	335	345	355
O28	SKSENCAGMA	LNVLKAGNSE	IYFPLPDVKL	VATPNNVYAY	ANKVRQRIES	LNQSYNEIMK
O29	SKSENCAGMA	LNVLKAGNSE	IYFPLPDVKL	VATPNNVYAY	ANKVRQRIES	LNQSYNEIMK
O112	SKSENCAGMA	LNVLKAGNSE	IYFPLPDVKL	VATPNNVYAY	ANKVRQRIES	LNQSYNEIMK
O124	SKSENCAGMA	LNVLKAGNSE	IYFPLPDVKL	VATPNNVYAY	ANKVRQRIES	LNQSYNEIMK
O124:H30	SKSENCAGMA	LNVLKAGNSE	IYFPLPDVKL	VATPNNVYAY	ANKVRQRIES	LNQSYNEIMK
O136	SKSENCAGMA	LNVLKAGNSE	IYFPLPDVKL	VATPNNVYAY	ANKVRQRIES	LNQSYNEIMK
O143	SKSENCAGMA	LNVLKAGNSE	IYFPLPDVKL	VATPNNVYAY	ANKVRQRIES	LNQSYNEIMK
O144	SKSENCAGMA	LNVLKAGNSE	IYFPLPDVKL	VATPNNVYAY	ANKVRQRIES	LNQSYNEIMK
O152	SKSENCAGMA	LNVLKAGNSE	IYFPLPDVKL	VATPNNVYAY	ANKVRQRIES	LNQSYNEIMK
O164	SKSENCAGMA	LNVLKAGNSE	IYFPLPDVKL	VATPNNVYAY	ANKVRQRIES	LNQSYNEIMK
O167	SKSENCAGMA	LNVLKAGNSE	IYFPLPDVKL	VATPNNVYAY	ANKVRQRIES	LNQSYNEIMK

SHIGELLA 2	SKSENCAGMA	LNVLKAGNSE	IYFPLPDVKL	VATPNDVYAY	ANKVRQRIES	LNQSYNEIMK
SHIGELLA 5	SKSENCAGMA	LNVLKAGNSE	IYFPLPDVKL	VATPNDVYAY	ANKVRQRIES	LNQSYNEIMK
						
	365	375	385	395	405	415
O28	YIESDFDLR	LTQLRRSYLK	SFNKINLIHT	PKTFKPLSIS	LYKHPTENV	SEDFDAVINA
O29	YIESDFDLR	LTQLRRSYLK	SFNKINLIHT	PKTFKPLSIS	LYKHPTENV	SEDFDAVINA
O112	YIESDFDLR	LTQLRRSYLK	SFNKINLIHT	PKTFKPLSIS	LYKHPTENV	SEDFDAVINA
O124	YIESDFDLR	LTQLRRSYLK	SFNKINLIHT	PKTFKPLSIS	LYKHPTENV	SEDFDAVINA
O124:H30	YIESDFDLR	LTQLRRSYLK	SFNKINLIHT	PKTFKPLSIS	LYKHPTENV	SEDFDAVINA
O136	YIESDFDLR	LTQLRRSYLK	SFNKINLIHT	PKTFKPLSIS	LYKHPTENV	SEDFDAVINA
O143	YIESDFDLR	LTQLRRSYLK	SFNKINLIHT	PKTFKPLSIS	LYKHPTENV	SEDFDAVINA
O144	YIESDFDLR	LTQLRRSYLK	SFNKINLIHT	PKTFKPLSIS	LYKHPTENV	SEDFDAVINA
O152	YIESDFDLR	LTQLRRSYLK	SFNKINLIHT	PKTFKPLSIS	LYKHPTENV	SEDFDAVINA
O164	YIESDFDLR	LTQLRRSYLK	SFNKINLIHT	PKTFKPLSIS	LYKHPTENV	SEDFDAVINA
O167	YIESDFDLR	LTQLRRSYLK	SFNKINLIHT	PKTFKPLSIS	LYKHPTENV	SEDFDAVINA
SHIGELLA 2	YIESDFDLR	LTQLRRSYLK	SFNKINLIHT	PKTFKPLSIS	LYKHPTENV	SEDFDAVINA
SHIGELLA 5	YIESDFDLR	LTQLRRSYLK	SFNKINLIHT	PKTFKPLSIS	LYKHPTENV	SEDFDAVINA
						
	425	435	445	455	465	475
O28	CHSYLVKSAP	SNMSRVLNEL	KTEATDKKEE	IEKSIKIID	YYNSLKSPDL	GTKLYIHDLL
O29	CHSYLVKSAP	SNMSRVLNEL	KTEATDKKEE	IEKSIKIID	YYNSLKSPDL	GTKLYIHDLL
O112	CHSYLVKSAP	SNMSRVLNEL	KTEATDKKEE	IEKSIKIID	YYNSLKSPDL	GTKLYIHDLL
O124	CHSYLVKSAP	SNMSRVLNEL	KTEATDKKEE	IEKSIKIID	YYNSLKSPDL	GTKLYIHDLL
O124:H30	CHSYLVKSAP	SNMSRVLNEL	KTEATDKKEE	IEKSIKIID	YYNSLKSPDL	GTKLYIHDLL
O136	CHSYLVKSAP	SNMSRVLNEL	KTEATDKKEE	IEKSIKIID	YYNSLKSPDL	GTKLYIHDLL
O143	CHSYLVKSAP	SNMSRVLNEL	KTEATDKKEE	IEKSIKIID	YYNSLKSPDL	GTKLYIHDLL
O144	CHSYLVKSAP	SNMSRVLNEL	KTEATDKKEE	IEKSIKIID	YYNSLKSPDL	GTKLYIHDLL
O152	CHSYLVKSAP	SNMSRVLNEL	KTEATDKKEE	IEKSIKIID	YYNSLKSPDL	GTKLYIHDLL
O164	CHSYLVKSAP	SNMSRVLNEL	KTEATDKKEE	IEKSIKIID	YYNSLKSPDL	GTKLYIHDLL
O167	CHSYLVKSAP	SNMSRVLNEL	KTEATDKKEE	IEKSIKIID	YYNSLKSPDL	GTKLYIHDLL
SHIGELLA 2	CHSYLVKSAP	SNMTRVLNEL	KTEATDKKEE	IEKSIKIID	YYNSLKSPDL	GTKLYIHDLL
SHIGELLA 5	CHSYLVKSAP	SNMTRVLNEL	KTEATDKKEE	IEKSIKIID	YYNSLKSPDL	GTKLYIHDLL
						
	485	495				
O28	QVNKLLLNN	HSNI-				
O29	QVNKLLLNN	HSNI-				
O112	QVNKLLLNN	HSNI-				
O124	QVNKLLLNN	HSNI-				
O124:H30	QVNKLLLNN	HSNI-				
O136	QVNKLLLNN	HSNI-				
O143	QVNKLLLNN	HSNI-				
O144	QVNKLLLNN	HSNI-				
O152	QVNKLLLNN	HSNI-				
O164	QVNKLLLNN	HSNI-				
O167	QVNKLLLNN	HSNI-				
SHIGELLA 2	QINKLLLNN	HSNI-				
SHIGELLA 5	QINKLLLNN	HSNI-				

Figura 10 - Alinhamento da sequência de aminoácidos da proteína lcsB dos diferentes sorotipos de EIEC e de *Shigella flexneri* 2A e 5A.

Quando comparamos as sequências de lcsA de EIEC com a sequência de *S. flexneri* M90T, encontramos trocas de aminoácidos nas seguintes posições: T53I, S242I (apenas para o sorotipo O164:H⁻), V279I (exceto o sorotipo O112:H⁻), A725V (exceto o sorotipo O112:H⁻), S923G, G1000V e W1077G. Para lcsB, apenas o

sorotipo O29:H⁻ apresentou diferença (V30I), e quando comparamos os sorotipos de EIEC com M90T, observamos que as regiões I2S, I30V, A66E, K76N, K105R, E202D, Y269H, Q285K, N336D, S434T e V482I apresentaram trocas de aminoácidos. Entre os 11 sorotipos de EIEC observamos que para lcsA, 9 sorotipos foram idênticos, sendo que apenas O112 e O164 foram diferentes, inclusive entre si (Tabela 6). Em relação à lcsB, a única sequência de aa diferente foi a do sorotipo O29 (Tabela 7).

Tabela 6 - Relação de trocas de aminoácidos da proteína lcsA, devido à mudanças de nucleotídeos entre os sorotipos de EIEC com as *Shigella flexneri*.

Posição do Nucleotídeo	Posição do Aminoácido	Troca de Aminoácido em relação à <i>S. flexneri</i> M90T	Propriedade Química do Aminoácido	Sorotipo EIEC
158	53	Treonina (T) – Isoleucina (I)	Neutro – Apolar	Todos
625	209	Não houve mudança de aa	-	-
663	221	Não houve mudança de aa	-	-
725	242	Serina (S) – Isoleucina (I)	Neutro – Apolar	O164
835	279	Valina(V) – Isoleucina(I)	Apolar – Apolar	Todos exceto O112
1278	426	Não houve mudança de aa	-	-
2174	725	Alanina(A) – Valina(V)	Apolar – Apolar	Todos exceto O112
2767	923	Serina(S) – Glicina(G)	Neutro – Apolar	Todos
2999	1000	Glicina(G) – Valina(V)	Apolar – Apolar	Todos
3229	1077	Triptofano(W) – Glicina(G)	Apolar – Apolar	Todos

(aa)* Abreviação de aminoácidos.

Tabela 7 - Relação de trocas de aminoácidos da proteína lcsB, devido à mudanças de nucleotídeos entre os sorotipos de EIEC com as Shigella flexneri. (aa) Abreviação de aminoácidos.

Posição do Nucleotídeo	Posição do Aminoácido	Troca de Aminoácido	Propriedade Química do Aminoácido	Sorotipo EIEC
5	2	Isoleucina(I) – Serina(S)	Neutro – Neutro	Todos
88	30	Isoleucina(I) – Valina(V)	Neutro – Apolar	Todos exceto O29
197	66	Alanina(A) – Glutamato (E)	Apolar – Ácido	Todos
228	76	Lisina(K) – Asparagina(N)	Básico – Neutro	Todos
288	96	Não houve mudança de aa	-	-
300	100	Não houve mudança de aa	-	-
306	102	Não houve mudança de aa	-	-
314	105	Lisina(K) – Arginina(R)	Básico – Básico	Todos
393	131	Não houve mudança de aa	-	-
438	146	Não houve mudança de aa	-	-
579	193	Não houve mudança de aa	-	-
606	202	Glutamato(E) – Aspartato(D)	Ácido – Ácido	Todos
805	269	Tirosina(Y) – Histidina(H)	Neutro – Básico	Todos
853	285	Glutamina(Q) – Lisina(K)	Neutro – Básico	Todos
1006	336	Asparagina(N) – Aspartato(D)	Neutro – Ácido	Todos
1071	357	Não houve mudança de aa	-	-
1128	376	Não houve mudança de aa	-	-
1170	390	Não houve mudança de aa	-	-
1300	434	Serina(S) – Treonina(T)	Neutro – Neutro	Todos
1444	482	Valina(V) – Isoleucina(I)	Apolar – Neutro	Todos

Análise das estruturas protéicas secundárias – lcsA e lcsB

Como os resultados de seqüenciamento não são suficientes para ampararmos nossa hipótese de que uma diferença estrutural de lcsA e lcsB de EIEC podem cooperar com sua menor disseminação e menor virulência, analisamos as possíveis estruturas secundárias.

As estruturas secundárias de lcsA e lcsB foram obtidas através do programa *Protein homology/analogy recognition engine V2.0 – Phyre 2* (KELLEY & STERNBERG, 2009). Observamos algumas mudanças nas estruturas de lcsA e lcsB, tanto em α -hélice quanto em β -folha (Figura 10).

Figura 11 - Comparação das estruturas secundárias da proteína lcsA dos diferentes sorotipos de EIEC e de *S. flexneri* 5a (M90T), através do programa *Protein homology/analogy recognition engine V2.0 – Phyre 2*.

Figura 12 - Comparação das estruturas secundárias da proteína IcsB dos diferentes sorotipos de EIEC e de *S. flexneri* 5a (M90T), através do programa *Protein homology/analogy recognition engine V2.0 – Phyre 2*.

5 DISCUSSÃO

A importância deste estudo se dá pela deficiência de conhecimento a respeito da patogenicidade de EIEC. Apesar da sua semelhança bioquímica e genética com *Shigella* spp, observa-se que EIEC é menos patogênica (DuPONT, 1971). Neste trabalho, diferentes sorotipos de EIEC mostraram capacidade de disseminação intracelular menor do que *S. flexneri* M90T, e este fenótipo pode ter relação com a diferença estrutural das proteínas lcsA e lcsB entre as duas espécies. Os dados obtidos mostraram também diferenças de disseminação dentro do patotipo EIEC, o que ressalta uma possível diferença de patogenicidade entre os sorotipos estudados.

Para o estudo da diarreia, a melhor maneira de se estudar a patogenicidade de um enteropatógeno seria um modelo animal, porém os modelos animais são precários e para contornar essa situação, muitos pesquisadores fazem uso do modelo *in vitro* ou *ex-vivo*. Presos a este fato, escolhemos um modelo experimental que se assemelhasse ao microambiente intestinal. A função dos principais genes de disseminação de diferentes sorotipos de EIEC e *S. flexneri* M90T, foi estudada através do método de placas de lise (*Plaque Assay*). A formação de placas é um complexo fenotípico que medeia vários aspectos distintos de virulência de *Shigella*, bem como de EIEC, incluindo sua habilidade de invadir, multiplicar e moverem-se inter e intracelularmente.

Para este método células Caco-2 foram utilizadas, pois quando em cultura se diferenciam expressando características morfológicas e bioquímicas de enterócitos

(PINTO et al., 1983), sendo assim, permitem uma análise mais fidedigna em relação ao comportamento bacteriano.

A princípio, avaliamos a capacidade de disseminação de cada espécie bacteriana durante uma cinética de invasão em células Caco-2. Em um determinado período de tempo foi possível observar que a amostra M90T apresentou uma maior disseminação em relação a todos os sorotipos de EIEC, e dentre as EIEC, os sorotipos que mais disseminaram foram O29:H⁻ e O124:H⁻. Utilizamos um período de 96 horas de incubação, pois dados anteriores mostraram que em outros intervalos de tempo (36, 48 e 84 horas) os halos formados pelo sorotipo O124:H⁻ foram muito pequenos, principalmente para o tempo de 36 horas, o que tornou sua visualização fotográfica insatisfatória (MORENO et al, 2009). Os resultados nos sugerem que, após longos períodos de infecção, *S. flexneri* apresenta a capacidade de potencializar a sua disseminação, ao passo que O124:H⁻ e os demais sorotipos de EIEC permanecem mais localizada no sítio de infecção.

Observando o comportamento de disseminação de cada sorotipo de EIEC neste trabalho, surgiu a hipótese de que esta diferença estaria relacionada com a sequência gênica dos genes envolvidos na disseminação (*icsA* e *icsB*). Partindo principalmente dos resultados obtidos em alguns trabalhos, onde mostraram a diversidade gênica encontrada em diferentes cepas isoladas utilizando técnicas de biologia molecular (GORDILLO et. al., 1992; AGDA, 2000; GIBOTTI et. al., 2004), seqüenciamos os genes responsáveis pela disseminação, *icsA* e *icsB*, dos 11 sorotipos aqui estudados.

Dentre as sequências de *icsA*, os sorotipos que apresentaram diferença em relação aos outros sorotipos foram O112NM (FBC112/17) (A835G e T2174C),

O143NM (FBC143/2) (T663C), O144NM (FBC144/6) (T663C) e O164NM (FBC164/4) (G725T). Além disso, nas sequências de *icsB*, obtivemos mudanças apenas na amostra FBC29/4 (O29NM) (G88A e G393T). No entanto, como utilizamos a sequência de *Shigella flexneri* (GenBank, número nc_002698.1) para desenhar os iniciadores para o PCR, alinhamos e comparamos as sequências das EIEC com M90T. No decorrer das análises verificamos algumas mudanças de nucleotídeos entre essas amostras bacterianas e assim as sequências de *icsA* e *icsB* de EIEC foram comparadas com outro sorotipo de *S. flexneri* (2a) (GenBank NC_004851.1) (Tabelas 4 e 6). De forma interessante, as sequências de nucleotídeos destes genes de EIEC foram distintas dos dois sorotipos de *S. flexneri*, sendo que estes também se mostraram diferentes, o que salienta o polimorfismo dos genes *icsA* e *icsB* independente da espécie bacteriana.

A fim de se comparar as proteínas IcsA e IcsB, utilizamos o programa EXPASY *Translate Tool* para obter a sequência de aminoácidos de cada sorotipo de EIEC e da cepa de *S. flexneri* M90T. Nesta nova análise, foi possível observar algumas mudanças de aminoácidos tanto em IcsA como em IcsB (Tabelas 5 e 7). Sabe-se que a região de IcsA consiste em três principais domínios: uma sequência sinal N-terminal, uma proteína de transporte (através da membrana interna) dependente de Sec; um domínio de translocação terminal que possibilita a exportação da região N-terminal remanescente de IcsA e um domínio passageiro, através da membrana externa (MAY & MORONA, 2008; KUHNEL & DIEZMANN, 2011). O domínio passageiro se encontra exposto na membrana externa, ancorado pelo domínio de translocação, além de ser responsável pelo recrutamento de N-WASP e motilidade bacteriana (GOLDBERG, 2001).

Para que ocorra a localização unipolar de IcsA, esta proteína necessita ser clivada, mecanismo dependente do gene plasmidial *phoN2* (*apy*) que codifica uma enzima periplasmática denominada Apirase, capaz de hidrolisar sequencialmente trifosfatos de nucleosídeos em difosfatos e depois monofosfato. Devido a sua atividade catalítica e estrutura primária, especulava-se que *phoN2* esteja associada à indução do processo de polimerização de actina (SANTAPAOLA et al., 2002). Porém, estudos posteriores utilizando mutantes em *phoN2* verificaram que a clivagem e a entrega de IcsA na superfície bacteriana não dependiam desta enzima (SANTAPAOLA et al., 2006). Sabendo-se da necessidade de ocorrer uma clivagem de IcsA, um estudo realizado por Steinhauer e colaboradores (1999) mostrou que este fenômeno ocorre através de outra proteína bacteriana denominada SopA/IcsP, sendo a clivagem de IcsA entre os resíduos R₇₅₈ e R₇₅₉ (MAY & MORONA, 2008). Nessa região, não observamos diferenças de aminoácidos nos sorotipos de EIEC, o que podemos deduzir que este sítio catalítico seja igual ao de *S. flexneri*.

Outro ponto importante para o processo de disseminação bacteriana ocorrer, é a “camuflagem” de IcsA pela proteína IcsB. Quanto ao mecanismo, em *S. flexneri* na região dos aminoácidos 320 a 433 ocorre a interação de IcsA com IcsB assim como com a proteína autofágica Atg5 (OGAWA, et. al., 2005). Desta forma, quando a bactéria está dentro da célula hospedeira, ocorre uma competição entre a proteína autofágica e a proteína bacteriana IcsB pelo sítio de afinidade em IcsA. Com isso, é necessário a ligação de IcsA e IcsB para que o processo autofágico não ocorra, e para que se dê o início da polimerização dos filamentos de actina (F-actina). Comparando esta região entre os sorotipos de EIEC, também não observamos mudanças na sequência de aminoácidos (Tabela 5). A região da sequência do

aminoácido de IcsB que se liga na região de IcsA em *S. flexneri* até o presente momento não foi estudado.

A região de IcsA (53 a 758 aa) exposta ao meio citoplasmático da célula hospedeira possui pequenas porções que exercem papéis importantes para a disseminação bacteriana. Do aminoácido 103 a 433, há uma série de repetições ricas em glicina (GRR), onde se observou *in vitro* que a região 140-307 seria o sítio de ligação de N-WASP. Há uma hipótese de que a região 53 a 508 seria importante tanto para a polimerização de actina quanto para o recrutamento de N-WASP *in vivo* (SUZUKI e SASAKAWA, 2001). Já a região do aminoácido 104 a 506, parece interagir com outra proteína do hospedeiro – a Vinculina (SUZUKI et al., 1996). Esta região particularmente nos chamou a atenção, pois nos sorotipos de EIEC apresentaram-se distintos de *S. flexneri* M90T entre os aminoácidos 53 a 758, sendo T53I, S242I (apenas para a amostra FBC164/4), V279I, A725V (exceto a amostra FBC112/17). Neste último caso, as amostras de EIEC apresentaram nesta posição o mesmo aminoácido apresentado por *S. flexneri* 2a, e a amostra FBC112/17, apresentou nesta mesma posição o mesmo aminoácido de *S. flexneri* 5a. Esses dados sugerem que as diferenças de disseminação entre EIEC e *S. flexneri* podem estar envolvidas no processo de ligação e/ou recrutamento de N-WASP, como também na interação com a vinculina (proteína do citoesqueleto). Sabe-se que N-WASP possui a função de recrutar o complexo Arp 2/3 que por sua vez, polimeriza os filamentos de actina, para que ocorra a movimentação da bactéria dentro das células hospedeiras, além de propulsionar a bactéria para as células vizinhas (SUZUKI et al., 1996; OGAWA et al., 2005).

O conhecimento da sequência de aminoácidos de IcsA dos diferentes sorotipos de EIEC será de grande valia para estudos futuros, pois estudos

realizados por May e Morona (2008) mostraram que mutações em *S. flexneri* em diferentes aminoácidos podem causar uma má polarização, uma baixa ou nula formação de placas de lise em células, um menor recrutamento de N-WASP, como também uma menor polimerização de actina. Este estudo teve 47 mutantes em diferentes aminoácidos (região 52 a 758 aa), e alguns apresentaram uma sensibilidade à degradação por proteases endógenas de membrana externa, porém outros apresentaram sensibilidade a proteases periplasmáticas, além de um aumento da sensibilidade à tripsina. Esses dados corroboram com Oliver e colaboradores (2003), onde os autores observaram que para *B. pertussis*, a eliminação da região autochaperona (601 a 692 aa) tornou a proteína auto transportadora BrkA susceptível à degradação por proteases presentes na membrana externa e tripsina.

Alguns patógenos intracelulares como *Coxiella burnetti*, *Legionella pneumophila* e *Salmonella typhimurium* (AMER, BYRNE e SWANSON, 2005; GUTIERREZ et al., 2005) são capazes de bloquear ou alterar a maturação do fagolisossomo nas células hospedeira e sobreviver dentro da via lítica. Outros patógenos invasores, como *Burkholderia pseudomallei*, *Listeria monocytogenes*, *Mycobacterium marinum*, *Rickettsia* e *Shigella* spp, são capazes de romper o vacúolo de membrana e escapar para o citoplasma, onde são capazes de se multiplicarem e se moverem através da polimerização de actina na região unipolar da bactéria, processo denominado em motilidade baseada em actina (CORSSAT e SANSONETTI, 2004; GOUIN et al., 2005).

EIEC também utiliza esse processo, sendo a proteína IcsB uma das responsáveis por este fenômeno. Sabe-se que esta proteína é secretada pelo Sistema de Secreção do Tipo III (SSTT), sendo exposta no citoplasma da célula

hospedeira. Sua função principal é de competir com uma proteína autofágica Atg5 pelo sítio de ligação em IcsA (OGAWA et al., 2003). Na infecção de células BHK (*baby hamster kidney*) com mutantes em *icsB* foi observado que estes eram capazes de invadir e escapar do vacúolo celular, mas foram incapazes de se disseminar de uma célula a outra (OGAWA et al., 2005) sendo o microrganismo degradado pelo processo de autofagia (OGAWA et al., 2011). Esses dados enfatizam a necessidade de IcsB para que o processo de disseminação ocorra.

No nosso trabalho, além das diferenças de *icsB* entre EIEC e *S. flexneri* M90T, dentro do grupo EIEC, observamos a presença de polimorfismo do gene *icsB* apenas para o sorotipo O29:H⁻ (FBC029/4). A diferença entre EIEC e *S. flexneri* já foi observada anteriormente por Moreno (2007). Nos dois casos, a tradução em proteína e análise da estrutura secundária sugeriram uma alteração na conformação de IcsB de EIEC quando comparada à *S. flexneri*. Porém, não se pode afirmar que tais mudanças conformacionais sejam significantes em relação à atividade protéica. No processo de disseminação bacteriana, outras proteínas estão envolvidas, como VirA e IcsP, sendo a primeira responsável pela ruptura do microtúbulo da célula hospedeira, e a segunda importante na clivagem de IcsA para sua mobilização unipolar na célula bacteriana (STEINHAEUER et al., 1999; SCHROEDER e HILBI, 2008).

Como é possível visualizar, o processo de disseminação bacteriana é complexo e dependente de diferentes mecanismos, alguns conhecidos e alguns provavelmente ainda desconhecidos. Em nosso trabalho, contribuímos para o conhecimento da biologia de EIEC no que concerne à sua disseminação intercelular. É possível que a grandeza da diferença entre a disseminação de EIEC e *Shigella* spp e entre os diferentes sorotipos de EIEC possa ter alguma ligação com a

atividade das proteínas IcsA e IcsB, uma vez que a conformação distinta destas proteínas possa culminar em diferentes atividades proteicas. Estudos mais minuciosos com IcsA e IcsB, assim como a comparação da expressão dos genes *icsA* e *icsB* entre diferentes cepas, são necessários para que esta hipótese seja aceita.

Também sugerimos que a ligação entre IcsA e IcsB de EIEC demande mais tempo do que a ligação destas proteínas em *Shigella* spp. Tal feito ocasionaria um maior tempo de exposição de EIEC à proteína autofágica Atg5, o que seria fatal à bactéria. Esta hipótese será alvo do nosso próximo estudo, a ser realizado durante o doutorado.

6 CONCLUSÃO

- Existem polimorfismos dos genes *icsA* e *icsB* dentro do grupo EIEC, assim como em relação aos sorotipos *S. flexneri* 2a e *S. flexneri* 5a;
- Sorotipos de EIEC são diferentes quanto à sua capacidade de disseminar em células intestinais da linhagem Caco-2;
- As diferenças de disseminação intercelular dentro do grupo EIEC e entre EIEC e *S. flexneri* podem ter relação com o processo de ligação e/ou recrutamento de N-WASP, como também na interação com a vinculina (proteína do citoesqueleto).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALBUQUERQUE, J.A.T. Análise comparativa da transcrição de genes envolvidos na invasão e escape de *Escherichia coli* enteroinvasora e *Shigella flexneri* em macrófagos J774. 2006. 53 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006.

ALLAOUI, A., MOUNIER, J., PRÉVOST, M.C., SANSONETTI, P.J., PARSOT, C. *icsB*: a *Shigella flexneri* virulence gene necessary for the lysis of protrusions during intracellular spread. *Mol. Microbiol.*, v.6, p.1605-1616, 1992.

ALMEIDA, M.T.G., SILVA, R.M., DONAIRE, L.M., MOREIRA, L.E., MARTINEZ, M.B. Enteropatógenos Associados com Diarréia Aguda em crianças. *Jornal de Pediatria* (RJ), v.74, p. 291-298, 1998.

ALTSCHUL S.F., GISH, W., MILLER, W., MYERS, E.W., LIPMAN, D.J. Basic local alignment search tool. *J Mol Biol.*, v. 5, p. 403-10, 1990.

AMER, A.O., BYRNE, B.G., SWANSON, M.S. Macrophages rapidly transfer pathogens from lipid raft vacuoles to autophagosomes. *Autophagy*, v. 1, n. 1, p. 53-8, 2005.

ANDRADE, A. Expressão do flagelo em sorotipos imóveis de *Escherichia coli* Enteroinvasora. 2000. 99 p. Dissertação (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2000.

AZEVEDO, M.E.F. Influência do pH ácido na expressão do lipopolissacarídeo e das proteínas de membrana externa de *Escherichia coli* invasora. 1998. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1998.

BAHRANI, F.K., SANSONETTI, P.J., PARSOT, C. Secretion of Ipa proteins by *Shigella flexneri*: inducer molecules and kinetics of activation. *Infect Immun.*, v. 65, p. 4005-10, 1997.

BANDO, S.Y., MORENO, A.C.R., ALBUQUERQUE, J.A.T., AMHAZ, J.M.K., MOREIRA-FILHO, C.A., MARTINEZ, M. B. Expression of bacterial virulence factors and cytokines during macrophage in vitro infection by enteroinvasive *Escherichia coli* and *Shigella flexneri*: a comparative study. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* (Online), 2010.

BERLUTTI, F., CASALINO, M., ZAGAGLIA, C., FRADIANI, P.A., VISCA, P., NICOLETTI. Expression of the virulence plasmid-carried apyrase gene (*apy*) of enteroinvasive *Escherichia coli* and *Shigella flexneri* is under the control of HN-S and the VirF and the VirB regulatory cascade. *Infect. Immune.*, v. 66, p. 4957-64, 1998.

BERNARDINI, M.L., MOUNIER, J., d'HAUTEVILLE, H., COQUIS-RONDON, M., SANSONETTI, P.J. Identification of *icsA*, a plasmid locus of *Shigella flexneri* that governs intra- and intercellular spread through interaction with F-actin. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, v. 86, p. 3867-71, 1989.

CABRAL, J.P. Water microbiology: Bacterial pathogens and water. *Int J Environ Res Public Health.*, v. 7, p. 3657-703, 2010.

CHATERJEE, B.D., SANYAL, S.N. Is it all shigellosis? *Lancet*, v. 2, p. 574, 1984.

COSSART, P. SANSONETTI, P.J. Bacterial invasion: the paradigm of enteroinvasive pathogens. *Science*, v. 304, p. 242-248, 2004.

DALL'AGNOL, M., MARTINEZ, M. B. Uptake of iron from different compounds by enteroinvasive *Escherichia coli*. *Rev. Microbiol.*, v. 30, p. 149-152, 1999.

DUPONT, H.L., FORMAL, S.B., HORNICK, R.B., SNYDER, M.J., LIBONATI, J.P., SHEHAN, D.G., LABREC, E.H., KALAS, J.P. Pathogenesis of *Escherichia coli* diarrhea. *N. Engl. J. Med.*, v. 285, p. 1-9, 1971.

ECHEVERRIA, P., SETHABUTR, O., SERICHTANTALERGS, O., LEXOMBOON, U., TAMURA, K. *Shigella* and Enteroinvasive *Escherichia coli* infections in households of children with dysentery in Bangkok. *J. Infect. Dis.*, v. 165, p. 144-147, 1992.

EGILE, C., LOISEL, T.P., LAURENT, V., LI, R., PANTALONI, D., SANSONETTI, P.J., CARLIER, M.F. Activation of the CDC42 effector N-WASP by the *Shigella flexneri* lcsA protein promotes actin nucleation by Arp2/3 complex and bacterial actin-based motility. *J. Cell Biol.*, v. 146, p. 1319-1332, 1999.

EWING, W.H., GRAVATTI, J.L. *Shigella* Types Encountered in the Mediterranean Area. *J Bacteriol*, v. 53, p. 191-195, 1947.

FAUNDEZ, G., FIGUEROA, G., TRONCOSO, M., CABELLO, F.C. Characterization of Enteroinvasive *Escherichia coli* strains isolated from children with Diarrhea in Chile. *Journal of Clinical Microbiology.*, v. 26, p. 928-932, 1988.

FDA - Food and Drug Administration. Enteroinvasive *Escherichia coli* (EIEC). Available online: <http://www.fda.gov/Food/FoodSafety/Foodbornellness/FoodbornellnessFoodbornePathogensNaturalToxins/BadBugBook/ucm071298.htm> (Acessado em 22/09/2011).

FERNANDES, M.R.F., TRABULSI, L.R. A new *E. coli* serotype causing experimental kerato-conjunctivitis in the guinea pig (preliminar report). *Rev. Inst. Med. Trop.*, v. 9, p. 3717-3723, 1990.

FERREIRA, L.G. Caracterização da Resposta Inflamatória induzida por *Escherichia coli* enteroinvasora (EIEC) e *Shigella flexneri* em células epiteliais intestinais da linhagem Caco-2. 2008. Tese (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.

FORMAL, S.B., HALE, T.L., SANSONETTI, P.J. Invasive enteric pathogens. *Rev. Infect. Dis.*, v. 5, p. 702-707, 1983.

GAILLARD, J.L., BERCHÉ, P., MOUNIER, J., RICHARD, S., SANSONETTI, P. In vitro model of penetration and intracellular growth of *Listeria monocytogenes* in the human enterocyte-like cell line Caco-2. *Infect. Immun.*, v. 55, p. 2822-9, 1997.

GASTEIGER, E., GATTIKER, A., HOOGLAND, C., IVANYI, I., APPEL, R.D., BAIROCH, A. ExPASy: the proteomics server for in-depth protein knowledge and analysis. *Nucleic Acids Res.*, v. 31, p. 3784-3788, 2003.

GIBOTTI, A., TANAKA, T.L., OLIVEIRA, V.R., TADDEI, C.R., MARTINEZ, M.B. Molecular characterization of enteroinvasive *Escherichia coli* *ipa* genes by PCR-RFLP analysis. *Braz. J. Microbiol.*, v. 35, p. 74-80, 2004.

GOLDBERG, M.B. Actin-based motility of intracellular microbial pathogens. *Microbiol. Mol. Microbiol. Rev.*, v. 65, p. 595-626, 2001.

GORDILLO, M.E., REEVE, G.R., PAPPAS, J., MATHEWSON, J.J., DuPONT, H.L., MURRAY, B.E. Molecular Characterization of Strains of Enteroinvasive *Escherichia coli* 0143, Including Isolates from a Large Outbreak in Houston, Texas. *Journal of Clinical Microbiology*, v. 30, n. 4, p. 889-93, 1992.

GOUIN, E., WELCH, M.D., COSSART, P. Actin-based motility of intracellular pathogens. *Curr. Opin. Microbiol.* v. 8, p. 35-45, 2005.

GROSS, R.J., THOMAS, L.V., CHEASTY, T., DAY, N.P., ROWE, B., TOLEDO, M.R.F., TRABULSI, L.R. Enterotoxigenic and enteroinvasive *Escherichia coli* strains belonging to a new O group, O167. *J. Clin. Microbiol.*, v. 17, n. 3, p. 521-523, 1983.

GUTIERREZ, M.G., VAZQUEZ, C.L., MUNAFO, D.B., ZOPPINI, F.C., BERON, W., RABINOVITCH, M., COLOMBO, M.I. Autophagy induction favours the generation and maturation of the Coxiella-replicative vacuoles. *Cell Microbiol.*, v. 7, p. 981-993, 2005.

HALL, T.A. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for windows 97/98/NT. *Nucl. Acids. Symp. Ser.*, v. 41, p. 95-98, 1999.

HURT, J.K., McQUADE, T.J., EMANUELE, A., LARSEN, M.J., GARCIA, G.A. High-throughput screening of the virulence regulator VirF: A novel antibacterial target for Shigellosis. *Soc. Biomol. Sciences.*, v. 15, p. 379-387, 2010.

JAIN, S., ULSEN, P.V., BENZ, I., SCHMIDT, A., FERNANDEZ, R., TOMMASSEN, J., GOLDBERG, M.B. Polar localization of the autotransporter family of large bacterial virulence proteins. *J. Bacteriol.*, v. 188, n. 13, p. 4841-4850, 2006.

KAIN, K.C., BARTELUK, R.L., KELLY, M.T., XIN, H., De HUA, G., YUAN, G., PROCTOR, E.M., BYRNE, S., STIVER, H.G. Etiology of childhood diarrhea in Beijing China. *J. Microbiol.*, v. 29, p. 90-95, 1991.

KAPER, J.B., NATARO, J.P., MOBLEY, H.L. Pathogenic *Escherichia coli*. *Nat. Rev.*, v. 2, p. 123-140, 2004.

KATOULI, M., JAARI, A., MOGHADDAM, A.A.F., KETABI, G.R. Etiological studies of diarrheal diseases in infants and young children in Iran. *J. Trop. Med. Med. Hyg.*, v. 93, p. 22-27, 1990.

KELLEY, L.A.; STERNBERG, M.J.E. Nature Protocols. *Nature*, v. 4, p. 363-71, 2009.

KONKEL, M.E., TILLY, K. Temperature-regulated expression of bacterial virulence genes. *Microb. Infect. Immune.*, v. 2, p. 157-166, 2000.

KUHNEL, K., DIEZMANN, D. Crystal structure of the autochaperone region from the *Shigella flexneri* autotransporter lcsA. *J. Bacteriol.*, v. 193, n. 8, p. 2043-5, 2011.

LE-GALL, T., MAVRIS, M., MARTINO, M.C., BERNARDINI, M.L., DENAMUR, E., PARSOT, C. Analysis of virulence plasmid gene expression defines three classes of effectors in the type III secretion system of *Shigella flexneri*. *Microbiol.*, v. 151, p. 951-962, 2005.

LEVINE, M.M. *Escherichia coli* that cause diarrhea: enterotoxigenic, enteropathogenic, enteroinvasive, enterohemorrhagic, and enteroadherent. *J. Infect. Dis.*, v. 155, p. 377-389, 1987.

MARIER, R., WELLS, J.C., SWANSON, R.C., CALLAHAN, W. MEHLMAN, I. J. No outbreak of enteropathogenic *E. coli* foodborne disease traced to imported cheese. *Lancet*, p. 1376-1378, 1973.

MAURELLI, A.T., BLACKMON, B., CURTIS, R. Loss of pigmentation in *Shigella flexneri* 2a is correlated with the loss of virulence-associated plasmid. *Infect. Immun.*, v. 43, p. 397-401, 1984.

MAY, K.L., MORONA, R. Mutagenesis of the *Shigella flexneri* autotransporter lcsA reveals novel functional regions involved in lcsA biogenesis and recruitment of host neural Wiscott-Aldrich syndrome protein. *J Bacteriol.*, v. 190, p. 4666-76, 2008.

MÉNARD, R., DEHIO, C., SANSONETTI, P.J. Bacterial entry into epithelial cells: the paradigm of *Shigella*. *Trends in Microbiol.*, v. 4, p. 220-226, 1996.

MORENO, A.C.R. Papel das células dendríticas na infecção de células epiteliais intestinais por *Escherichia coli* enteroinvasora. 2007. 91 f. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2007.

MORENO, A.C., FERREIRA, L.G., MARTINEZ, M.B. Enteroinvasive *Escherichia coli* vs. *Shigella flexneri*: how different patterns of gene expression affect virulence. *FEMS Microbiol Lett.*, v. 301, p. 156-163, 2009.

MORENO, A.C.R., FILHO, A.F., GOMES, T.A.T.G., RAMOS, S.T.S., MONTEMOR, L.P.G., TAVARES, V.C., FILHO, L.S., IRINO, K., MARTINEZ, M.B. Etiology of

childhood diarrhea in the northeast of Brazil: significant emergent diarrheal pathogens. *Elsevier*, v. 66, p. 50-27, 2010.

NATARO, J.P., KAPER, J.B. Diarrheagenic *Escherichia coli*. *Clinical Microbiol. Rev.*, v. 11, p. 142-201, 1998.

OGAWA, M., SUZUKI, T., TATSUNO, I., ABE, H., SASAKAWA, C. IcsB, secreted via the type III secretion system, is chaperoned by IpgA and required at the post-invasion stage of *Shigella* pathogenicity. *Mol. Microbiol.*, v. 48, n. 4, p. 913-31, 2003.

OGAWA, M., YOSHIMORI, T., SUZUKI, T., SAGARA, H., MIZUSHIMA, N., SASAKAWA, C. Escape of intracellular *Shigella* from autophagy. *Science*, v. 307, p. 727-731, 2005.

OGAWA, M., MIMURO, H., YOSHIKAWA, Y., ASHIDA, H., SASAKAWA, C. Manipulation of autophagy by bacteria for their own benefit. *Microbiol. Immunol.*, v. 55, n. 7, p. 459-71, 2011.

OGUNSANYA, T.I., ROTIMI, V.O., SDENUGA, A. A study of etiopathological agents of childhood diarrhoea in Lagos, Nigeria. *J. Med. Microbiol.*, v. 40, p. 10-14, 1994.

OLIVEIRA, M.G., PESSOA, G.V.A., NAKAHARA, L.K. Enteropathogenic bacteria occurrence in diarrheic children living in Juiz de Fora municipality Minas Gerais. *Inst. Adolfo Lutz*, v. 49, p. 161-168, 1989.

OLIVER, D.C., HUNAG, G., NODEL, E., PLEASANCE, S., FERNANDEZ, R.C. A conserved region within the *Bordetella pertussis* autotransporter BrkA is necessary for folding of its passenger domain. *Mol. Microbiol.*, v. 47, p. 1367-83, 2003.

ORLANDI, P.P., SILVA, T., MAGALHAES, G.F., ALVES, F., CUNHA, R.P.A.C., DURLACHER, R., SILVA, L.H.P. Enteropathogenos Associated with Diarrheal Disease in Infants of Poor Urban Areas of Porto Velho, Rondônia: a Preliminary Study. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 96, p. 621-625, 2001.

ORLANDI, P.P., MAGALHAES, G.F., MATOS, N.B., SILVA, T., PENATTI, M., NOGUEIRA, P.A., SILVA, L.H. Etiology of diarrheal infections in children of Porto Velho (Rondonia, Western Amazon region, Brazil). *Braz. J. Med. Biol. Res.*, v. 39, p. 507-517, 2006.

PACHECO-GIL, L., OCHOA, T.J., FLORES-ROMO, L., DUPONT, H.L., ESTRADA-GARCIA, T. Enteroinvasive *Escherichia coli* severe dysentery complicated by rotavirus gastroenteritis. *J. Infect.*, v. 53, p. 211-213, 2006.

PARSOT, C. *Shigella* spp. and enteroinvasive *Escherichia coli* pathogenicity factors. *FEMS Microbiol. Lett.*, v. 252, p. 11-8, 2005.

PAYNE, S.M., FINKELSTEIN, R.A. Detection and differentiation of iron-responsive avirulent mutants on Congo red agar. *Infect. Immun.*, v. 18, n. 1, p. 94-8, 1977.

PINTO, M., ROBINE-LEON, S., APPAY, M.D. Enterocyte-like differentiation and polarization of the human colon carcinoma cell line Caco-2 in culture. *Biol Cell*, v. 47, p. 323-330, 1983.

PORTER, M.E., DORMAN, C. Positive regulation of *Shigella flexneri* virulence genes by integration host factor. *J. bacteriol.*, v. 179, p. 6537-50, 1997.

PRATS, G., LLOVET, T. Enteroinvasive *Escherichia coli*: Pathogenic mechanisms and epidemiology. *Microbiologia*, v. 11, p. 91-96, 1995.

PROSSIDA, G., FRADIANI, P.A., DI LORENZO, M., FALCONI, M., MICHELI, G., CASALINO, M., NICOLETTI, M., COLONNA, B. A role for H-NS in the regulation of the virF gene of *Shigella* and enteroinvasive *Escherichia coli*. *Inst. Pasteur-Elsevier*, v. 149, p. 15-25, 1998.

RATHMAN, M., JOUIRHI, N., ALLAOUI, A., SANSONETTI, P.J., PARSOT, C., TRAN VAN NHIEU, G. The development of a FACS-based strategy for the isolation of *Shigella flexneri* mutants those are deficient in intercellular spread. *Mol. Microbiol.*, v. 35, p. 974-90, 2000.

REGUA-MANGIA, A.H., GOMES, T.A.T., VIEIRA, M.A.M, ANDRADE, J.R.C., IRINO, K., TEIXEIRA, L.M. Frequency and characteristics of diarrhoeagenic *Escherichia coli* strains isolated from children with and without diarrhoea in Rio de Janeiro, Brazil. *Journal of Infection*, v. 48, p.161-167, 2004.

ROBBINS, J.R., MONACK, D., MCCALLUM, S.J., VEGAS, A., PHAM, E., GOLDBERG M.B., THERIOT J.A. The making of a gradient: lcsA (VirG) polarity in *Shigella flexneri*. *Mol. Microbiol.*, v. 41, p. 861–872, 2001.

SAKAZAKI, R., TAMURA, K., SAITO, M. Enteropathogenic *Escherichia coli* associated with in children and adults. *Jap. J. Med. Sci. Biol.*, v. 20, p. 387-399, 1967.

SAMBUY, Y., DE ANGELIS, I., RANALDI, G., SCARINO, M.L., STAMMATI, A., ZUCCO, F. The Caco-2 cell line as a model f the intestinal barrier: influence of cell and culture-related factors on Caco-2 cell functional characteristics. *Cell Biol Toxicol*, v. 21, p. 1-26, 2005.

SANSONETTI, P.J., ARONDEL, J., CANTEY, J.R., PREVOST, M.C., HUERRE, M. Infection of rabbit Peyer's patches by *Shigella flexneri*: effect of adhesive or invasive bacterial on follicle-associated epithelium. *Infect. Immun.*, v. 64, p. 2752-64, 1996.

SANTAPAOLA, D., CASALINO, M., PETRUCCA, A., PRESUTTI, C., ZAGAGLIA, C., BERLUTTI, F., COLONNA, B., NICOLETTI, M. Enteroinvasive *Escherichia coli* virulence-plasmid-carried apyrase (apy) and ospB genes are organized as a bicistronic operon and are subject to differential expression. *Microbiology.*, v. 148, p. 2519-29, 2002.

SANTAPAOLA, D., DEL CHIERICO, F., PETRUCCA, A., UZZAU, S., CASALINO, M., COLONNA, B., SESSA, R., BERLUTTI, F., NICOLETTI, M. Apyrase, the product

of the virulence plasmid-encoded *phoN2* (*apy*) gene of *Shigella flexneri*, is necessary for proper unipolar IcsA localization and for efficient intercellular spread. *J. Bacteriol.*, v. 188, p. 1620-7, 2006.

SCHROEDER, G.N., HILBI, H. Molecular Pathogenesis of *Shigella* spp.: Controlling host cell signaling, invasion, and death by Type III Secretion. *Clinical Microbiol. Reviews.*, v. 21, p. 134-156, 2008.

SERENY, B. Biochemical reactions and virulence of *E. coli* O124, K27 (B17). *Acta Microbiol. Acad. Sci. Hung.*, v. 10, p. 11-18, 1963.

SILVA, R.M., TOLEDO, M.R.F., TRABULSI, L.R. Biochemical and cultural characteristics of invasive *Escherichia coli*. *J. Clin. Microbiol.*, v. 11, p. 441-444, 1980.

STEINHAEUER, J., AGHA, R., PHAM, T., VARGA, A.W., GOLDBERG, M.B., The unipolar *Shigella* surface protein IcsA is targeted directly to the bacterial old pole: IcsP cleavage of IcsA occurs over the entire bacterial surface. *Mol. Microbiol.*, v. 32, p. 367-77, 1999.

STEVENS, J.M., GALYOV, E.E., STEVENS, M.P., Actin-dependent movement of bacterial pathogens. *Nat. Rev. Microbiol.*, v. 4., p. 91-101, 2006.

SUZUKI, T., SAGA, S., SASAKAWA, C. Functional analysis of *Shigella* VirG domains essential for interaction with vinculin and actin-based motility. *J. Biol. Chem.*, v. 271, p. 21878-85, 2006.

SUZUKI, T., SASAKAWA, C. Molecular basis of the intracellular spreading of *Shigella*. *Infect. Immun.*, v. 69, p. 5959-66, 2001.

TAMURA, K., SAKAZAKI, R., MURASE, M., KOSAKO, Y. Serotyping and categorisation of *Escherichia coli* strains isolated between 1958 and 1992 from diarrhoeal diseases in Asia. *J. Med. Microbiol.*, v. 45, p. 353-8, 1996.

TAYLOR, D.N., ESCHEVERRIA, P., PAL, T., SETHABUTR, O., SAIBORISUTH, S., SRICHARMORN, S., ROWE, B., CROSS, J. The role of *Shigella* sp, enteroinvasive *Escherichia coli*, and other enteropathogens as causes of childhood dysentery in Thailand. *J. Infect. Dis.*, v. 153, p. 1132-1138, 1986.

TOLEDO, M.R.F., REIS, M.H.L., ALMEIDA, R.G., TRABULSI, L.R. Invasive strain of *Escherichia coli* belonging to O group 29. *J. Clin. Microbiol.*, v. 9, p. 288-9, 1979.

TOLEDO, M.R.F., REIS, M.H.L., TRABULSI, L.R. New invasive *Escherichia coli* strain. *J. Clin. Microbiol.*, v. 11, p. 422-3, 1980.

TOLEDO, M.R.F., TRABULSI, L.R. Frequency of enteroinvasive *Escherichia coli* in children with diarrhea and healthy controls in São Paulo, SP, Brazil. *Microbiol.*, v. 21, p. 1-4, 1990.

TRABULSI, L.R., ZULIANI, M.E., SERRANO, J.A. On two new enterobacteria pathogenic to the guinea pig eye (cultures 185T-64 and 193T-64). *Rev. Inst. Med. Trop.*, v. 7, p. 241-6, 1965.

TRABULSI, L.R., FERNANDES, M.R.F., ZULIANI, M.E. Novas bactérias patogênicas para o intestino do homem. *Inst. Med. Trop.*, v. 9, p. 31-39, 1967.

TRABULSI, L.R., FERNANDES, M.R.F. Antigenic identity of culture 193T-64 and *E. coli* O136:k78 (B22). *Inst. Med. Trop.*, v. 11, p. 101-103, 1969.

VALENTINI, S.R., GOMES, T.A.T., FALCÃO, D.P. Lack of virulence factors in *Escherichia coli* strains of enteropathogenic serogroups isolated from water. *Appl. Envir. Microbiol.*, v. 58, p. 412-414, 1992.

VIEIRA, N., BATES, S.J, SOLBERG, O.D., PONCE, K., HOWSMON, R., CEVALLOS, W., TRUEBA, G., RILEY, L., EISENBERG, J.N.S. High Prevalence of Enteroinvasive *Escherichia coli* Isolated in a Remote Region of Northern Coastal Ecuador. *Journal de Medicina Tropical*, v. 76, p. 528-533, 2007.

ANEXO A – Sequenciamento *icsA*

	5	15	25	35	45	55
O28	ATGAATCAAA	TTCACAAATT	TTTTTGTAAT	ATGACCCAAT	GTTACACAGG	GGGGGCCGGA
O29	ATGAATCAAA	TTCACAAATT	TTTTTGTAAT	ATGACCCAAT	GTTACACAGG	GGGGGCCGGA
O112	ATGAATCAAA	TTCACAAATT	TTTTTGTAAT	ATGACCCAAT	GTTACACAGG	GGGGGCCGGA
O124	ATGAATCAAA	TTCACAAATT	TTTTTGTAAT	ATGACCCAAT	GTTACACAGG	GGGGGCCGGA
O124H30	ATGAATCAAA	TTCACAAATT	TTTTTGTAAT	ATGACCCAAT	GTTACACAGG	GGGGGCCGGA
O136	ATGAATCAAA	TTCACAAATT	TTTTTGTAAT	ATGACCCAAT	GTTACACAGG	GGGGGCCGGA
O143	ATGAATCAAA	TTCACAAATT	TTTTTGTAAT	ATGACCCAAT	GTTACACAGG	GGGGGCCGGA
O144	ATGAATCAAA	TTCACAAATT	TTTTTGTAAT	ATGACCCAAT	GTTACACAGG	GGGGGCCGGA
O152	ATGAATCAAA	TTCACAAATT	TTTTTGTAAT	ATGACCCAAT	GTTACACAGG	GGGGGCCGGA
O164	ATGAATCAAA	TTCACAAATT	TTTTTGTAAT	ATGACCCAAT	GTTACACAGG	GGGGGCCGGA
O167	ATGAATCAAA	TTCACAAATT	TTTTTGTAAT	ATGACCCAAT	GTTACACAGG	GGGGGCCGGA
SHIGELLA 2	ATGAATCAAA	TTCACAAATT	TTTTTGTAAT	ATGACCCAAT	GTTACACAGG	GGGGGCCGGA
SHIGELLA 5	ATGAATCAAA	TTCACAAATT	TTTTTGTAAT	ATGACCCAAT	GTTACACAGG	GGGGGCCGGA

	65	75	85	95	105	115
O28	GAATTACCTA	CGGTAAAGGA	AAAAACATGC	AAATTGTCTT	TTTCTCCTTT	TGTTGTTGGT
O29	GAATTACCTA	CGGTAAAGGA	AAAAACATGC	AAATTGTCTT	TTTCTCCTTT	TGTTGTTGGT
O112	GAATTACCTA	CGGTAAAGGA	AAAAACATGC	AAATTGTCTT	TTTCTCCTTT	TGTTGTTGGT
O124	GAATTACCTA	CGGTAAAGGA	AAAAACATGC	AAATTGTCTT	TTTCTCCTTT	TGTTGTTGGT
O124H30	GAATTACCTA	CGGTAAAGGA	AAAAACATGC	AAATTGTCTT	TTTCTCCTTT	TGTTGTTGGT
O136	GAATTACCTA	CGGTAAAGGA	AAAAACATGC	AAATTGTCTT	TTTCTCCTTT	TGTTGTTGGT
O143	GAATTACCTA	CGGTAAAGGA	AAAAACATGC	AAATTGTCTT	TTTCTCCTTT	TGTTGTTGGT
O144	GAATTACCTA	CGGTAAAGGA	AAAAACATGC	AAATTGTCTT	TTTCTCCTTT	TGTTGTTGGT
O152	GAATTACCTA	CGGTAAAGGA	AAAAACATGC	AAATTGTCTT	TTTCTCCTTT	TGTTGTTGGT
O164	GAATTACCTA	CGGTAAAGGA	AAAAACATGC	AAATTGTCTT	TTTCTCCTTT	TGTTGTTGGT
O167	GAATTACCTA	CGGTAAAGGA	AAAAACATGC	AAATTGTCTT	TTTCTCCTTT	TGTTGTTGGT
SHIGELLA 2	GAATTACCTA	CGGTAAAGGA	AAAAACATGC	AAATTGTCTT	TTTCTCCTTT	TGTTGTTGGT
SHIGELLA 5	GAATTACCTA	CGGTAAAGGA	AAAAACATGC	AAATTGTCTT	TTTCTCCTTT	TGTTGTTGGT

	125	135	145	155	165	175
O28	GCATCCCTGT	TGCTCGGGG	GCCAATAGCT	TTTGCTATTC	CTCTTTCGGG	TACTCAAGAA
O29	GCATCCCTGT	TGCTCGGGG	GCCAATAGCT	TTTGCTATTC	CTCTTTCGGG	TACTCAAGAA
O112	GCATCCCTGT	TGCTCGGGG	GCCAATAGCT	TTTGCTATTC	CTCTTTCGGG	TACTCAAGAA
O124	GCATCCCTGT	TGCTCGGGG	GCCAATAGCT	TTTGCTATTC	CTCTTTCGGG	TACTCAAGAA
O124H30	GCATCCCTGT	TGCTCGGGG	GCCAATAGCT	TTTGCTATTC	CTCTTTCGGG	TACTCAAGAA
O136	GCATCCCTGT	TGCTCGGGG	GCCAATAGCT	TTTGCTATTC	CTCTTTCGGG	TACTCAAGAA
O143	GCATCCCTGT	TGCTCGGGG	GCCAATAGCT	TTTGCTATTC	CTCTTTCGGG	TACTCAAGAA
O144	GCATCCCTGT	TGCTCGGGG	GCCAATAGCT	TTTGCTATTC	CTCTTTCGGG	TACTCAAGAA
O152	GCATCCCTGT	TGCTCGGGG	GCCAATAGCT	TTTGCTATTC	CTCTTTCGGG	TACTCAAGAA
O164	GCATCCCTGT	TGCTCGGGG	GCCAATAGCT	TTTGCTATTC	CTCTTTCGGG	TACTCAAGAA
O167	GCATCCCTGT	TGCTCGGGG	GCCAATAGCT	TTTGCTATTC	CTCTTTCGGG	TACTCAAGAA
SHIGELLA 2	GCATCCCTGT	TGCTCGGGG	GCCAATAGCT	TTTGCTACTC	CTCTTTCGGG	TACTCAAGAA
SHIGELLA 5	GCATCCCTGT	TGCTCGGGG	GCCAATAGCT	TTTGCTACTC	CTCTTTCGGG	TACTCAAGAA

	185	195	205	215	225	235
O28	CTTCATTTT	CAGAGGACAA	TTATGAAAAA	TTATTAACAC	CTGTTGATGG	ACTTTCTCCC
O29	CTTCATTTT	CAGAGGACAA	TTATGAAAAA	TTATTAACAC	CTGTTGATGG	ACTTTCTCCC
O112	CTTCATTTT	CAGAGGACAA	TTATGAAAAA	TTATTAACAC	CTGTTGATGG	ACTTTCTCCC
O124	CTTCATTTT	CAGAGGACAA	TTATGAAAAA	TTATTAACAC	CTGTTGATGG	ACTTTCTCCC
O124H30	CTTCATTTT	CAGAGGACAA	TTATGAAAAA	TTATTAACAC	CTGTTGATGG	ACTTTCTCCC
O136	CTTCATTTT	CAGAGGACAA	TTATGAAAAA	TTATTAACAC	CTGTTGATGG	ACTTTCTCCC
O143	CTTCATTTT	CAGAGGACAA	TTATGAAAAA	TTATTAACAC	CTGTTGATGG	ACTTTCTCCC
O144	CTTCATTTT	CAGAGGACAA	TTATGAAAAA	TTATTAACAC	CTGTTGATGG	ACTTTCTCCC
O152	CTTCATTTT	CAGAGGACAA	TTATGAAAAA	TTATTAACAC	CTGTTGATGG	ACTTTCTCCC
O164	CTTCATTTT	CAGAGGACAA	TTATGAAAAA	TTATTAACAC	CTGTTGATGG	ACTTTCTCCC

O167	CTTCATTTTT	CAGAGGACAA	TTATGAAAAA	TTATTAACAC	CTGTTGATGG	ACTTTCTCCC
SHIGELLA 2	CTTCATTTTT	CAGAGGACAA	TTATGAAAAA	TTATTAACAC	CTGTTGATGG	ACTTTCTCCC
SHIGELLA 5	CTTCATTTTT	CAGAGGACAA	TTATGAAAAA	TTATTAACAC	CTGTTGATGG	ACTTTCTCCC
						
	245	255	265	275	285	295
O28	TTGGGAGCTG	GTGAAGATGG	AATGGATGCG	TGGTATATAA	CTTCTTCCAA	CCCCTCTCAT
O29	TTGGGAGCTG	GTGAAGATGG	AATGGATGCG	TGGTATATAA	CTTCTTCCAA	CCCCTCTCAT
O112	TTGGGAGCTG	GTGAAGATGG	AATGGATGCG	TGGTATATAA	CTTCTTCCAA	CCCCTCTCAT
O124	TTGGGAGCTG	GTGAAGATGG	AATGGATGCG	TGGTATATAA	CTTCTTCCAA	CCCCTCTCAT
O124H30	TTGGGAGCTG	GTGAAGATGG	AATGGATGCG	TGGTATATAA	CTTCTTCCAA	CCCCTCTCAT
O136	TTGGGAGCTG	GTGAAGATGG	AATGGATGCG	TGGTATATAA	CTTCTTCCAA	CCCCTCTCAT
O143	TTGGGAGCTG	GTGAAGATGG	AATGGATGCG	TGGTATATAA	CTTCTTCCAA	CCCCTCTCAT
O144	TTGGGAGCTG	GTGAAGATGG	AATGGATGCG	TGGTATATAA	CTTCTTCCAA	CCCCTCTCAT
O152	TTGGGAGCTG	GTGAAGATGG	AATGGATGCG	TGGTATATAA	CTTCTTCCAA	CCCCTCTCAT
O164	TTGGGAGCTG	GTGAAGATGG	AATGGATGCG	TGGTATATAA	CTTCTTCCAA	CCCCTCTCAT
O167	TTGGGAGCTG	GTGAAGATGG	AATGGATGCG	TGGTATATAA	CTTCTTCCAA	CCCCTCTCAT
SHIGELLA 2	TTGGGAGCTG	GTGAAGATGG	AATGGATGCG	TGGTATATAA	CTTCTTCCAA	CCCCTCTCAT
SHIGELLA 5	TTGGGAGCTG	GTGAAGATGG	AATGGATGCG	TGGTATATAA	CTTCTTCCAA	CCCCTCTCAT
						
	305	315	325	335	345	355
O28	GCATCTAGAA	CTAAGCTACG	GATTAACCTCT	GATATTATGA	TTAGCGCAGG	TCATGGTGTT
O29	GCATCTAGAA	CTAAGCTACG	GATTAACCTCT	GATATTATGA	TTAGCGCAGG	TCATGGTGTT
O112	GCATCTAGAA	CTAAGCTACG	GATTAACCTCT	GATATTATGA	TTAGCGCAGG	TCATGGTGTT
O124	GCATCTAGAA	CTAAGCTACG	GATTAACCTCT	GATATTATGA	TTAGCGCAGG	TCATGGTGTT
O124H30	GCATCTAGAA	CTAAGCTACG	GATTAACCTCT	GATATTATGA	TTAGCGCAGG	TCATGGTGTT
O136	GCATCTAGAA	CTAAGCTACG	GATTAACCTCT	GATATTATGA	TTAGCGCAGG	TCATGGTGTT
O143	GCATCTAGAA	CTAAGCTACG	GATTAACCTCT	GATATTATGA	TTAGCGCAGG	TCATGGTGTT
O144	GCATCTAGAA	CTAAGCTACG	GATTAACCTCT	GATATTATGA	TTAGCGCAGG	TCATGGTGTT
O152	GCATCTAGAA	CTAAGCTACG	GATTAACCTCT	GATATTATGA	TTAGCGCAGG	TCATGGTGTT
O164	GCATCTAGAA	CTAAGCTACG	GATTAACCTCT	GATATTATGA	TTAGCGCAGG	TCATGGTGTT
O167	GCATCTAGAA	CTAAGCTACG	GATTAACCTCT	GATATTATGA	TTAGCGCAGG	TCATGGTGTT
SHIGELLA 2	GCATCTAGAA	CTAAGCTACG	GATTAACCTCT	GATATTATGA	TTAGCGCAGG	TCATGGTGTT
SHIGELLA 5	GCATCTAGAA	CTAAGCTACG	GATTAACCTCT	GATATTATGA	TTAGCGCAGG	TCATGGTGTT
						
	365	375	385	395	405	415
O28	GCTGGTGATA	ATAATGATGG	TAATAGTTGT	GGCGGTAATG	GTGGTGACTC	TATTACCGGA
O29	GCTGGTGATA	ATAATGATGG	TAATAGTTGT	GGCGGTAATG	GTGGTGACTC	TATTACCGGA
O112	GCTGGTGATA	ATAATGATGG	TAATAGTTGT	GGCGGTAATG	GTGGTGACTC	TATTACCGGA
O124	GCTGGTGATA	ATAATGATGG	TAATAGTTGT	GGCGGTAATG	GTGGTGACTC	TATTACCGGA
O124H30	GCTGGTGATA	ATAATGATGG	TAATAGTTGT	GGCGGTAATG	GTGGTGACTC	TATTACCGGA
O136	GCTGGTGATA	ATAATGATGG	TAATAGTTGT	GGCGGTAATG	GTGGTGACTC	TATTACCGGA
O143	GCTGGTGATA	ATAATGATGG	TAATAGTTGT	GGCGGTAATG	GTGGTGACTC	TATTACCGGA
O144	GCTGGTGATA	ATAATGATGG	TAATAGTTGT	GGCGGTAATG	GTGGTGACTC	TATTACCGGA
O152	GCTGGTGATA	ATAATGATGG	TAATAGTTGT	GGCGGTAATG	GTGGTGACTC	TATTACCGGA
O164	GCTGGTGATA	ATAATGATGG	TAATAGTTGT	GGCGGTAATG	GTGGTGACTC	TATTACCGGA
O167	GCTGGTGATA	ATAATGATGG	TAATAGTTGT	GGCGGTAATG	GTGGTGACTC	TATTACCGGA
SHIGELLA 2	GCTGGTGATA	ATAATGATGG	TAATAGTTGT	GGCGGTAATG	GTGGTGACTC	TATTACCGGA
SHIGELLA 5	GCTGGTGATA	ATAATGATGG	TAATAGTTGT	GGCGGTAATG	GTGGTGACTC	TATTACCGGA
						
	425	435	445	455	465	475
O28	TCTGACTTGT	CTATAATCAA	TCAAGGCATG	ATTCTTGGTG	GTAGCGGCGG	TAGCGGTGCT
O29	TCTGACTTGT	CTATAATCAA	TCAAGGCATG	ATTCTTGGTG	GTAGCGGCGG	TAGCGGTGCT
O112	TCTGACTTGT	CTATAATCAA	TCAAGGCATG	ATTCTTGGTG	GTAGCGGCGG	TAGCGGTGCT
O124	TCTGACTTGT	CTATAATCAA	TCAAGGCATG	ATTCTTGGTG	GTAGCGGCGG	TAGCGGTGCT
O124H30	TCTGACTTGT	CTATAATCAA	TCAAGGCATG	ATTCTTGGTG	GTAGCGGCGG	TAGCGGTGCT
O136	TCTGACTTGT	CTATAATCAA	TCAAGGCATG	ATTCTTGGTG	GTAGCGGCGG	TAGCGGTGCT
O143	TCTGACTTGT	CTATAATCAA	TCAAGGCATG	ATTCTTGGTG	GTAGCGGCGG	TAGCGGTGCT
O144	TCTGACTTGT	CTATAATCAA	TCAAGGCATG	ATTCTTGGTG	GTAGCGGCGG	TAGCGGTGCT
O152	TCTGACTTGT	CTATAATCAA	TCAAGGCATG	ATTCTTGGTG	GTAGCGGCGG	TAGCGGTGCT
O164	TCTGACTTGT	CTATAATCAA	TCAAGGCATG	ATTCTTGGTG	GTAGCGGCGG	TAGCGGTGCT
O167	TCTGACTTGT	CTATAATCAA	TCAAGGCATG	ATTCTTGGTG	GTAGCGGCGG	TAGCGGTGCT
SHIGELLA 2	TCTGACTTGT	CTATAATCAA	TCAAGGCATG	ATTCTTGGTG	GTAGCGGCGG	TAGCGGTGCT
SHIGELLA 5	TCTGACTTGT	CTATAATCAA	TCAAGGCATG	ATTCTTGGTG	GTAGCGGCGG	TAGCGGTGCT

						
	485	495	505	515	525	535
O28	GACCATAACG	GTGATGGTGG	TGAGGCTGTT	ACAGGAGACA	ATCTGTTTAT	AATAAATGGA
O29	GACCATAACG	GTGATGGTGG	TGAGGCTGTT	ACAGGAGACA	ATCTGTTTAT	AATAAATGGA
O112	GACCATAACG	GTGATGGTGG	TGAGGCTGTT	ACAGGAGACA	ATCTGTTTAT	AATAAATGGA
O124	GACCATAACG	GTGATGGTGG	TGAGGCTGTT	ACAGGAGACA	ATCTGTTTAT	AATAAATGGA
O124H30	GACCATAACG	GTGATGGTGG	TGAGGCTGTT	ACAGGAGACA	ATCTGTTTAT	AATAAATGGA
O136	GACCATAACG	GTGATGGTGG	TGAGGCTGTT	ACAGGAGACA	ATCTGTTTAT	AATAAATGGA
O143	GACCATAACG	GTGATGGTGG	TGAGGCTGTT	ACAGGAGACA	ATCTGTTTAT	AATAAATGGA
O144	GACCATAACG	GTGATGGTGG	TGAGGCTGTT	ACAGGAGACA	ATCTGTTTAT	AATAAATGGA
O152	GACCATAACG	GTGATGGTGG	TGAGGCTGTT	ACAGGAGACA	ATCTGTTTAT	AATAAATGGA
O164	GACCATAACG	GTGATGGTGG	TGAGGCTGTT	ACAGGAGACA	ATCTGTTTAT	AATAAATGGA
O167	GACCATAACG	GTGATGGTGG	TGAGGCTGTT	ACAGGAGACA	ATCTGTTTAT	AATAAATGGA
SHIGELLA 2	GACCATAACG	GTGATGGTGG	TGAGGCTGTT	ACAGGAGACA	ATCTGTTTAT	AATAAATGGA
SHIGELLA 5	GACCATAACG	GTGATGGTGG	TGAGGCTGTT	ACAGGAGACA	ATCTGTTTAT	AATAAATGGA

						
	545	555	565	575	585	595
O28	GAAATTATTT	CAGGTGGACA	TGGTGGCGAT	AGTTATAGTG	ATAGTGATGG	GGGGAATGGA
O29	GAAATTATTT	CAGGTGGACA	TGGTGGCGAT	AGTTATAGTG	ATAGTGATGG	GGGGAATGGA
O112	GAAATTATTT	CAGGTGGACA	TGGTGGCGAT	AGTTATAGTG	ATAGTGATGG	GGGGAATGGA
O124	GAAATTATTT	CAGGTGGACA	TGGTGGCGAT	AGTTATAGTG	ATAGTGATGG	GGGGAATGGA
O124H30	GAAATTATTT	CAGGTGGACA	TGGTGGCGAT	AGTTATAGTG	ATAGTGATGG	GGGGAATGGA
O136	GAAATTATTT	CAGGTGGACA	TGGTGGCGAT	AGTTATAGTG	ATAGTGATGG	GGGGAATGGA
O143	GAAATTATTT	CAGGTGGACA	TGGTGGCGAT	AGTTATAGTG	ATAGTGATGG	GGGGAATGGA
O144	GAAATTATTT	CAGGTGGACA	TGGTGGCGAT	AGTTATAGTG	ATAGTGATGG	GGGGAATGGA
O152	GAAATTATTT	CAGGTGGACA	TGGTGGCGAT	AGTTATAGTG	ATAGTGATGG	GGGGAATGGA
O164	GAAATTATTT	CAGGTGGACA	TGGTGGCGAT	AGTTATAGTG	ATAGTGATGG	GGGGAATGGA
O167	GAAATTATTT	CAGGTGGACA	TGGTGGCGAT	AGTTATAGTG	ATAGTGATGG	GGGGAATGGA
SHIGELLA 2	GAAATTATTT	CAGGTGGACA	TGGTGGCGAT	AGTTATAGTG	ATAGTGATGG	GGGGAATGGA
SHIGELLA 5	GAAATTATTT	CAGGTGGACA	TGGTGGCGAT	AGTTATAGTG	ATAGTGATGG	GGGGAATGGA

						
	605	615	625	635	645	655
O28	GGTGATGCCG	TCACAGGAGT	CAATCTACCC	ATAATCAACA	AAGGGACTAT	TTCCGGTGTT
O29	GGTGATGCCG	TCACAGGAGT	CAATCTACCC	ATAATCAACA	AAGGGACTAT	TTCCGGTGTT
O112	GGTGATGCCG	TCACAGGAGT	CAATCTACCC	ATAATCAACA	AAGGGACTAT	TTCCGGTGTT
O124	GGTGATGCCG	TCACAGGAGT	CAATCTACCC	ATAATCAACA	AAGGGACTAT	TTCCGGTGTT
O124H30	GGTGATGCCG	TCACAGGAGT	CAATCTACCC	ATAATCAACA	AAGGGACTAT	TTCCGGTGTT
O136	GGTGATGCCG	TCACAGGAGT	CAATCTACCC	ATAATCAACA	AAGGGACTAT	TTCCGGTGTT
O143	GGTGATGCCG	TCACAGGAGT	CAATCTACCC	ATAATCAACA	AAGGGACTAT	TTCCGGTGTT
O144	GGTGATGCCG	TCACAGGAGT	CAATCTACCC	ATAATCAACA	AAGGGACTAT	TTCCGGTGTT
O152	GGTGATGCCG	TCACAGGAGT	CAATCTACCC	ATAATCAACA	AAGGGACTAT	TTCCGGTGTT
O164	GGTGATGCCG	TCACAGGAGT	CAATCTACCC	ATAATCAACA	AAGGGACTAT	TTCCGGTGTT
O167	GGTGATGCCG	TCACAGGAGT	CAATCTACCC	ATAATCAACA	AAGGGACTAT	TTCCGGTGTT
SHIGELLA 2	GGTGATGCCG	TCACAGGAGT	CAATCTACCC	ATAATCAACA	AAGGGACTAT	TTCCGGTGTT
SHIGELLA 5	GGTGATGCCG	TCACAGGAGT	CAATCTACCC	ATAATCAACA	AAGGGACTAT	TTCCGGTGTT

						
	665	675	685	695	705	715
O28	AATGGAGGTA	ACAATTATGG	TGAGGGTGAT	GGCGGTAATG	GAGGTGATGC	CATCACAGGA
O29	AATGGAGGTA	ACAATTATGG	TGAGGGTGAT	GGCGGTAATG	GAGGTGATGC	CATCACAGGA
O112	AATGGAGGTA	ACAATTATGG	TGAGGGTGAT	GGCGGTAATG	GAGGTGATGC	CATCACAGGA
O124	AATGGAGGTA	ACAATTATGG	TGAGGGTGAT	GGCGGTAATG	GAGGTGATGC	CATCACAGGA
O124H30	AATGGAGGTA	ACAATTATGG	TGAGGGTGAT	GGCGGTAATG	GAGGTGATGC	CATCACAGGA
O136	AATGGAGGTA	ACAATTATGG	TGAGGGTGAT	GGCGGTAATG	GAGGTGATGC	CATCACAGGA
O143	AACGGAGGTA	ACAATTATGG	TGAGGGTGAT	GGCGGTAATG	GAGGTGATGC	CATCACAGGA
O144	AACGGAGGTA	ACAATTATGG	TGAGGGTGAT	GGCGGTAATG	GAGGTGATGC	CATCACAGGA
O152	AATGGAGGTA	ACAATTATGG	TGAGGGTGAT	GGCGGTAATG	GAGGTGATGC	CATCACAGGA
O164	AATGGAGGTA	ACAATTATGG	TGAGGGTGAT	GGCGGTAATG	GAGGTGATGC	CATCACAGGA
O167	AATGGAGGTA	ACAATTATGG	TGAGGGTGAT	GGCGGTAATG	GAGGTGATGC	CATCACAGGA
SHIGELLA 2	AATGGAGGTA	ACAATTATGG	TGAGGGTGAT	GGCGGTAATG	GAGGTGATGC	CATCACAGGA
SHIGELLA 5	AATGGAGGTA	ACAATTATGG	TGAGGGTGAT	GGCGGTAATG	GAGGTGATGC	CATCACAGGA

						
	725	735	745	755	765	775
O28	AGCAGCTCT	CTGTAATCAA	TAAGGGCACG	TTCGCTGGAG	GCAACGGAGG	TGCTGCTTAC
O29	AGCAGCTCT	CTGTAATCAA	TAAGGGCACG	TTCGCTGGAG	GCAACGGAGG	TGCTGCTTAC

0112	AGCAGCCTCT	CTGTAATCAA	TAAGGGCACG	TTCGCTGGAG	GCAACGGAGG	TGCTGCTTAC
0124	AGCAGCCTCT	CTGTAATCAA	TAAGGGCACG	TTCGCTGGAG	GCAACGGAGG	TGCTGCTTAC
0124H30	AGCAGCCTCT	CTGTAATCAA	TAAGGGCACG	TTCGCTGGAG	GCAACGGAGG	TGCTGCTTAC
0136	AGCAGCCTCT	CTGTAATCAA	TAAGGGCACG	TTCGCTGGAG	GCAACGGAGG	TGCTGCTTAC
0143	AGCAGCCTCT	CTGTAATCAA	TAAGGGCACG	TTCGCTGGAG	GCAACGGAGG	TGCTGCTTAC
0144	AGCAGCCTCT	CTGTAATCAA	TAAGGGCACG	TTCGCTGGAG	GCAACGGAGG	TGCTGCTTAC
0152	AGCAGCCTCT	CTGTAATCAA	TAAGGGCACG	TTCGCTGGAG	GCAACGGAGG	TGCTGCTTAC
0164	AGCATCCTCT	CTGTAATCAA	TAAGGGCACG	TTCGCTGGAG	GCAACGGAGG	TGCTGCTTAC
0167	AGCAGCCTCT	CTGTAATCAA	TAAGGGCACG	TTCGCTGGAG	GCAACGGAGG	TGCTGCTTAC
SHIGELLA 2	AGCAGCCTCT	CTGTAATCAA	TAAGGGCACG	TTCGCTGGAG	GCAACGGAGG	TGCTGCTTAC
SHIGELLA 5	AGCAGCCTCT	CTGTAATCAA	TAAGGGCACG	TTCGCTGGAG	GCAACGGAGG	TGCTGCTTAC
						
	785	795	805	815	825	835
028	GGTTATGGTT	ATGATGGCTA	CGGTGGTAAT	GCTATCACAG	GAGATAACCT	GTCTATAATC
029	GGTTATGGTT	ATGATGGCTA	CGGTGGTAAT	GCTATCACAG	GAGATAACCT	GTCTATAATC
0112	GGTTATGGTT	ATGATGGCTA	CGGTGGTAAT	GCTATCACAG	GAGATAACCT	GTCTGTAATC
0124	GGTTATGGTT	ATGATGGCTA	CGGTGGTAAT	GCTATCACAG	GAGATAACCT	GTCTATAATC
0124H30	GGTTATGGTT	ATGATGGCTA	CGGTGGTAAT	GCTATCACAG	GAGATAACCT	GTCTATAATC
0136	GGTTATGGTT	ATGATGGCTA	CGGTGGTAAT	GCTATCACAG	GAGATAACCT	GTCTATAATC
0143	GGTTATGGTT	ATGATGGCTA	CGGTGGTAAT	GCTATCACAG	GAGATAACCT	GTCTATAATC
0144	GGTTATGGTT	ATGATGGCTA	CGGTGGTAAT	GCTATCACAG	GAGATAACCT	GTCTATAATC
0152	GGTTATGGTT	ATGATGGCTA	CGGTGGTAAT	GCTATCACAG	GAGATAACCT	GTCTATAATC
0164	GGTTATGGTT	ATGATGGCTA	CGGTGGTAAT	GCTATCACAG	GAGATAACCT	GTCTATAATC
0167	GGTTATGGTT	ATGATGGCTA	CGGTGGTAAT	GCTATCACAG	GAGATAACCT	GTCTATAATC
SHIGELLA 2	GGTTATGGTT	ATGATGGCTA	CGGTGGTAAT	GCTATCACAG	GAGATAACCT	GTCTGTAATC
SHIGELLA 5	GGTTATGGTT	ATGATGGCTA	CGGTGGTAAT	GCTATCACAG	GAGATAACCT	GTCTGTAATC
						
	845	855	865	875	885	895
028	AACAATGGAG	CTATTTTAGG	CGGTAATGGT	GGACATTGGG	GGGATGCTAT	AAATGGTAGC
029	AACAATGGAG	CTATTTTAGG	CGGTAATGGT	GGACATTGGG	GGGATGCTAT	AAATGGTAGC
0112	AACAATGGAG	CTATTTTAGG	CGGTAATGGT	GGACATTGGG	GGGATGCTAT	AAATGGTAGC
0124	AACAATGGAG	CTATTTTAGG	CGGTAATGGT	GGACATTGGG	GGGATGCTAT	AAATGGTAGC
0124H30	AACAATGGAG	CTATTTTAGG	CGGTAATGGT	GGACATTGGG	GGGATGCTAT	AAATGGTAGC
0136	AACAATGGAG	CTATTTTAGG	CGGTAATGGT	GGACATTGGG	GGGATGCTAT	AAATGGTAGC
0143	AACAATGGAG	CTATTTTAGG	CGGTAATGGT	GGACATTGGG	GGGATGCTAT	AAATGGTAGC
0144	AACAATGGAG	CTATTTTAGG	CGGTAATGGT	GGACATTGGG	GGGATGCTAT	AAATGGTAGC
0152	AACAATGGAG	CTATTTTAGG	CGGTAATGGT	GGACATTGGG	GGGATGCTAT	AAATGGTAGC
0164	AACAATGGAG	CTATTTTAGG	CGGTAATGGT	GGACATTGGG	GGGATGCTAT	AAATGGTAGC
0167	AACAATGGAG	CTATTTTAGG	CGGTAATGGT	GGACATTGGG	GGGATGCTAT	AAATGGTAGC
SHIGELLA 2	AACAATGGAG	CTATTTTAGG	CGGTAATGGT	GGACATTGGG	GGGATGCTAT	AAATGGTAGC
SHIGELLA 5	AACAATGGAG	CTATTTTAGG	CGGTAATGGT	GGACATTGGG	GGGATGCTAT	AAATGGTAGC
						
	905	915	925	935	945	955
028	AATATGACCA	TTGCTAATAG	CGGATATATA	ATTTTCAGGTA	AAGAAGATGA	TGGAACACAA
029	AATATGACCA	TTGCTAATAG	CGGATATATA	ATTTTCAGGTA	AAGAAGATGA	TGGAACACAA
0112	AATATGACCA	TTGCTAATAG	CGGATATATA	ATTTTCAGGTA	AAGAAGATGA	TGGAACACAA
0124	AATATGACCA	TTGCTAATAG	CGGATATATA	ATTTTCAGGTA	AAGAAGATGA	TGGAACACAA
0124H30	AATATGACCA	TTGCTAATAG	CGGATATATA	ATTTTCAGGTA	AAGAAGATGA	TGGAACACAA
0136	AATATGACCA	TTGCTAATAG	CGGATATATA	ATTTTCAGGTA	AAGAAGATGA	TGGAACACAA
0143	AATATGACCA	TTGCTAATAG	CGGATATATA	ATTTTCAGGTA	AAGAAGATGA	TGGAACACAA
0144	AATATGACCA	TTGCTAATAG	CGGATATATA	ATTTTCAGGTA	AAGAAGATGA	TGGAACACAA
0152	AATATGACCA	TTGCTAATAG	CGGATATATA	ATTTTCAGGTA	AAGAAGATGA	TGGAACACAA
0164	AATATGACCA	TTGCTAATAG	CGGATATATA	ATTTTCAGGTA	AAGAAGATGA	TGGAACACAA
0167	AATATGACCA	TTGCTAATAG	CGGATATATA	ATTTTCAGGTA	AAGAAGATGA	TGGAACACAA
SHIGELLA 2	AATATGACCA	TTGCTAATAG	CGGATATATA	ATTTTCAGGTA	AAGAAGATGA	TGGAACACAA
SHIGELLA 5	AATATGACCA	TTGCTAATAG	CGGATATATA	ATTTTCAGGTA	AAGAAGATGA	TGGAACACAA
						
	965	975	985	995	1005	1015
028	AATGTAGCAG	GTAATGCTAT	CCACATCACT	GGTGGAAACA	ATTTCATTAAT	ACTCCATGAA
029	AATGTAGCAG	GTAATGCTAT	CCACATCACT	GGTGGAAACA	ATTTCATTAAT	ACTCCATGAA
0112	AATGTAGCAG	GTAATGCTAT	CCACATCACT	GGTGGAAACA	ATTTCATTAAT	ACTCCATGAA
0124	AATGTAGCAG	GTAATGCTAT	CCACATCACT	GGTGGAAACA	ATTTCATTAAT	ACTCCATGAA
0124H30	AATGTAGCAG	GTAATGCTAT	CCACATCACT	GGTGGAAACA	ATTTCATTAAT	ACTCCATGAA
0136	AATGTAGCAG	GTAATGCTAT	CCACATCACT	GGTGGAAACA	ATTTCATTAAT	ACTCCATGAA

0143	AATGTAGCAG	GTAATGCTAT	CCACATCACT	GGTGGAAACA	ATTCATTAAT	ACTCCATGAA
0144	AATGTAGCAG	GTAATGCTAT	CCACATCACT	GGTGGAAACA	ATTCATTAAT	ACTCCATGAA
0152	AATGTAGCAG	GTAATGCTAT	CCACATCACT	GGTGGAAACA	ATTCATTAAT	ACTCCATGAA
0164	AATGTAGCAG	GTAATGCTAT	CCACATCACT	GGTGGAAACA	ATTCATTAAT	ACTCCATGAA
0167	AATGTAGCAG	GTAATGCTAT	CCACATCACT	GGTGGAAACA	ATTCATTAAT	ACTCCATGAA
SHIGELLA 2	AATGTAGCAG	GTAATGCTAT	CCACATCACT	GGTGGAAACA	ATTCATTAAT	ACTCCATGAA
SHIGELLA 5	AATGTAGCAG	GTAATGCTAT	CCACATCACT	GGTGGAAACA	ATTCATTAAT	ACTCCATGAA
						
	1025	1035	1045	1055	1065	1075
028	GGTTCTGTCA	TTACTGGTGA	TGTACAGGTT	AACAATTCAT	CCATTCTGAA	AATTATCAAC
029	GGTTCTGTCA	TTACTGGTGA	TGTACAGGTT	AACAATTCAT	CCATTCTGAA	AATTATCAAC
0112	GGTTCTGTCA	TTACTGGTGA	TGTACAGGTT	AACAATTCAT	CCATTCTGAA	AATTATCAAC
0124	GGTTCTGTCA	TTACTGGTGA	TGTACAGGTT	AACAATTCAT	CCATTCTGAA	AATTATCAAC
0124H30	GGTTCTGTCA	TTACTGGTGA	TGTACAGGTT	AACAATTCAT	CCATTCTGAA	AATTATCAAC
0136	GGTTCTGTCA	TTACTGGTGA	TGTACAGGTT	AACAATTCAT	CCATTCTGAA	AATTATCAAC
0143	GGTTCTGTCA	TTACTGGTGA	TGTACAGGTT	AACAATTCAT	CCATTCTGAA	AATTATCAAC
0144	GGTTCTGTCA	TTACTGGTGA	TGTACAGGTT	AACAATTCAT	CCATTCTGAA	AATTATCAAC
0152	GGTTCTGTCA	TTACTGGTGA	TGTACAGGTT	AACAATTCAT	CCATTCTGAA	AATTATCAAC
0164	GGTTCTGTCA	TTACTGGTGA	TGTACAGGTT	AACAATTCAT	CCATTCTGAA	AATTATCAAC
0167	GGTTCTGTCA	TTACTGGTGA	TGTACAGGTT	AACAATTCAT	CCATTCTGAA	AATTATCAAC
SHIGELLA 2	GGTTCTGTCA	TTACTGGTGA	TGTACAGGTT	AACAATTCAT	CCATTCTGAA	AATTATCAAC
SHIGELLA 5	GGTTCTGTCA	TTACTGGTGA	TGTACAGGTT	AACAATTCAT	CCATTCTGAA	AATTATCAAC
						
	1085	1095	1105	1115	1125	1135
028	AATGATTACA	CTGGGACCAC	ACCAACTATT	GAAGGTGATT	TATGTGCTGG	TGATTGTACA
029	AATGATTACA	CTGGGACCAC	ACCAACTATT	GAAGGTGATT	TATGTGCTGG	TGATTGTACA
0112	AATGATTACA	CTGGGACCAC	ACCAACTATT	GAAGGTGATT	TATGTGCTGG	TGATTGTACA
0124	AATGATTACA	CTGGGACCAC	ACCAACTATT	GAAGGTGATT	TATGTGCTGG	TGATTGTACA
0124H30	AATGATTACA	CTGGGACCAC	ACCAACTATT	GAAGGTGATT	TATGTGCTGG	TGATTGTACA
0136	AATGATTACA	CTGGGACCAC	ACCAACTATT	GAAGGTGATT	TATGTGCTGG	TGATTGTACA
0143	AATGATTACA	CTGGGACCAC	ACCAACTATT	GAAGGTGATT	TATGTGCTGG	TGATTGTACA
0144	AATGATTACA	CTGGGACCAC	ACCAACTATT	GAAGGTGATT	TATGTGCTGG	TGATTGTACA
0152	AATGATTACA	CTGGGACCAC	ACCAACTATT	GAAGGTGATT	TATGTGCTGG	TGATTGTACA
0164	AATGATTACA	CTGGGACCAC	ACCAACTATT	GAAGGTGATT	TATGTGCTGG	TGATTGTACA
0167	AATGATTACA	CTGGGACCAC	ACCAACTATT	GAAGGTGATT	TATGTGCTGG	TGATTGTACA
SHIGELLA 2	AATGATTACA	CTGGGACCAC	ACCAACTATT	GAAGGTGATT	TATGTGCTGG	TGATTGTACA
SHIGELLA 5	AATGATTACA	CTGGGACCAC	ACCAACTATT	GAAGGTGATT	TATGTGCTGG	TGATTGTACA
						
	1145	1155	1165	1175	1185	1195
028	ACTGTTTCAC	TATCAGGTAA	CAAATTCAC	GTTTCAGGTG	ACGTTTCTTT	TGGTGAGAAC
029	ACTGTTTCAC	TATCAGGTAA	CAAATTCAC	GTTTCAGGTG	ACGTTTCTTT	TGGTGAGAAC
0112	ACTGTTTCAC	TATCAGGTAA	CAAATTCAC	GTTTCAGGTG	ACGTTTCTTT	TGGTGAGAAC
0124	ACTGTTTCAC	TATCAGGTAA	CAAATTCAC	GTTTCAGGTG	ACGTTTCTTT	TGGTGAGAAC
0124H30	ACTGTTTCAC	TATCAGGTAA	CAAATTCAC	GTTTCAGGTG	ACGTTTCTTT	TGGTGAGAAC
0136	ACTGTTTCAC	TATCAGGTAA	CAAATTCAC	GTTTCAGGTG	ACGTTTCTTT	TGGTGAGAAC
0143	ACTGTTTCAC	TATCAGGTAA	CAAATTCAC	GTTTCAGGTG	ACGTTTCTTT	TGGTGAGAAC
0144	ACTGTTTCAC	TATCAGGTAA	CAAATTCAC	GTTTCAGGTG	ACGTTTCTTT	TGGTGAGAAC
0152	ACTGTTTCAC	TATCAGGTAA	CAAATTCAC	GTTTCAGGTG	ACGTTTCTTT	TGGTGAGAAC
0164	ACTGTTTCAC	TATCAGGTAA	CAAATTCAC	GTTTCAGGTG	ACGTTTCTTT	TGGTGAGAAC
0167	ACTGTTTCAC	TATCAGGTAA	CAAATTCAC	GTTTCAGGTG	ACGTTTCTTT	TGGTGAGAAC
SHIGELLA 2	ACTGTTTCAC	TATCAGGTAA	CAAATTCAC	GTTTCAGGTG	ACGTTTCTTT	TGGTGAGAAC
SHIGELLA 5	ACTGTTTCAC	TATCAGGTAA	CAAATTCAC	GTTTCAGGTG	ACGTTTCTTT	TGGTGAGAAC
						
	1205	1215	1225	1235	1245	1255
028	AGTTCCTTAA	ATTTAGCTGG	AATCAGTAGT	CTGGAAGCTT	CTGGAATAT	GTCATTTGGC
029	AGTTCCTTAA	ATTTAGCTGG	AATCAGTAGT	CTGGAAGCTT	CTGGAATAT	GTCATTTGGC
0112	AGTTCCTTAA	ATTTAGCTGG	AATCAGTAGT	CTGGAAGCTT	CTGGAATAT	GTCATTTGGC
0124	AGTTCCTTAA	ATTTAGCTGG	AATCAGTAGT	CTGGAAGCTT	CTGGAATAT	GTCATTTGGC
0124H30	AGTTCCTTAA	ATTTAGCTGG	AATCAGTAGT	CTGGAAGCTT	CTGGAATAT	GTCATTTGGC
0136	AGTTCCTTAA	ATTTAGCTGG	AATCAGTAGT	CTGGAAGCTT	CTGGAATAT	GTCATTTGGC
0143	AGTTCCTTAA	ATTTAGCTGG	AATCAGTAGT	CTGGAAGCTT	CTGGAATAT	GTCATTTGGC
0144	AGTTCCTTAA	ATTTAGCTGG	AATCAGTAGT	CTGGAAGCTT	CTGGAATAT	GTCATTTGGC
0152	AGTTCCTTAA	ATTTAGCTGG	AATCAGTAGT	CTGGAAGCTT	CTGGAATAT	GTCATTTGGC
0164	AGTTCCTTAA	ATTTAGCTGG	AATCAGTAGT	CTGGAAGCTT	CTGGAATAT	GTCATTTGGC

O167	AGTTCCTTTAA	ATTTAGCTGG	AATCAGTAGT	CTGGAAGCTT	CTGGAATAT	GTCATTTGGC
SHIGELLA 2	AGTTCCTTTAA	ATTTAGCTGG	AATCAGTAGT	CTGGAAGCTT	CTGGAATAT	GTCATTTGGC
SHIGELLA 5	AGTTCCTTTAA	ATTTAGCTGG	AATCAGTAGT	CTGGAAGCTT	CTGGAATAT	GTCATTTGGC
						
	1265	1275	1285	1295	1305	1315
O28	AACAATGTAA	AAGTGAAGC	TATTATAAAT	AACTGGGCGC	AGAAGGACTA	TAAACTGCTA
O29	AACAATGTAA	AAGTGAAGC	TATTATAAAT	AACTGGGCGC	AGAAGGACTA	TAAACTGCTA
O112	AACAATGTAA	AAGTGAAGC	TATTATAAAT	AACTGGGCGC	AGAAGGACTA	TAAACTGCTA
O124	AACAATGTAA	AAGTGAAGC	TATTATAAAT	AACTGGGCGC	AGAAGGACTA	TAAACTGCTA
O124H30	AACAATGTAA	AAGTGAAGC	TATTATAAAT	AACTGGGCGC	AGAAGGACTA	TAAACTGCTA
O136	AACAATGTAA	AAGTGAAGC	TATTATAAAT	AACTGGGCGC	AGAAGGACTA	TAAACTGCTA
O143	AACAATGTAA	AAGTGAAGC	TATTATAAAT	AACTGGGCGC	AGAAGGACTA	TAAACTGCTA
O144	AACAATGTAA	AAGTGAAGC	TATTATAAAT	AACTGGGCGC	AGAAGGACTA	TAAACTGCTA
O152	AACAATGTAA	AAGTGAAGC	TATTATAAAT	AACTGGGCGC	AGAAGGACTA	TAAACTGCTA
O164	AACAATGTAA	AAGTGAAGC	TATTATAAAT	AACTGGGCGC	AGAAGGACTA	TAAACTGCTA
O167	AACAATGTAA	AAGTGAAGC	TATTATAAAT	AACTGGGCGC	AGAAGGACTA	TAAACTGCTA
SHIGELLA 2	AACAATGTAA	AAGTGAAGC	TATTATAAAT	AACTGGGCGC	AGAAGGACTA	TAAACTGCTA
SHIGELLA 5	AACAATGTAA	AAGTGAAGC	TATTATAAAT	AACTGGGCGC	AGAAGGACTA	TAAACTGCTA
						
	1325	1335	1345	1355	1365	1375
O28	AGTGCAGATA	AAGGGATAAC	AGGTTTCAGT	GTTTCTAATA	TATCTATCAT	CAATCCGTTA
O29	AGTGCAGATA	AAGGGATAAC	AGGTTTCAGT	GTTTCTAATA	TATCTATCAT	CAATCCGTTA
O112	AGTGCAGATA	AAGGGATAAC	AGGTTTCAGT	GTTTCTAATA	TATCTATCAT	CAATCCGTTA
O124	AGTGCAGATA	AAGGGATAAC	AGGTTTCAGT	GTTTCTAATA	TATCTATCAT	CAATCCGTTA
O124H30	AGTGCAGATA	AAGGGATAAC	AGGTTTCAGT	GTTTCTAATA	TATCTATCAT	CAATCCGTTA
O136	AGTGCAGATA	AAGGGATAAC	AGGTTTCAGT	GTTTCTAATA	TATCTATCAT	CAATCCGTTA
O143	AGTGCAGATA	AAGGGATAAC	AGGTTTCAGT	GTTTCTAATA	TATCTATCAT	CAATCCGTTA
O144	AGTGCAGATA	AAGGGATAAC	AGGTTTCAGT	GTTTCTAATA	TATCTATCAT	CAATCCGTTA
O152	AGTGCAGATA	AAGGGATAAC	AGGTTTCAGT	GTTTCTAATA	TATCTATCAT	CAATCCGTTA
O164	AGTGCAGATA	AAGGGATAAC	AGGTTTCAGT	GTTTCTAATA	TATCTATCAT	CAATCCGTTA
O167	AGTGCAGATA	AAGGGATAAC	AGGTTTCAGT	GTTTCTAATA	TATCTATCAT	CAATCCGTTA
SHIGELLA 2	AGTGCAGATA	AAGGGATAAC	AGGTTTCAGT	GTTTCTAATA	TATCTATCAT	CAATCCGTTA
SHIGELLA 5	AGTGCAGATA	AAGGGATAAC	AGGTTTCAGT	GTTTCTAATA	TATCTATCAT	CAATCCGTTA
						
	1385	1395	1405	1415	1425	1435
O28	CTCACTACTG	GTGCTATTGA	CTATACAAAA	AGCTATATCA	GTGACCAGAA	TAAATTGATC
O29	CTCACTACTG	GTGCTATTGA	CTATACAAAA	AGCTATATCA	GTGACCAGAA	TAAATTGATC
O112	CTCACTACTG	GTGCTATTGA	CTATACAAAA	AGCTATATCA	GTGACCAGAA	TAAATTGATC
O124	CTCACTACTG	GTGCTATTGA	CTATACAAAA	AGCTATATCA	GTGACCAGAA	TAAATTGATC
O124H30	CTCACTACTG	GTGCTATTGA	CTATACAAAA	AGCTATATCA	GTGACCAGAA	TAAATTGATC
O136	CTCACTACTG	GTGCTATTGA	CTATACAAAA	AGCTATATCA	GTGACCAGAA	TAAATTGATC
O143	CTCACTACTG	GTGCTATTGA	CTATACAAAA	AGCTATATCA	GTGACCAGAA	TAAATTGATC
O144	CTCACTACTG	GTGCTATTGA	CTATACAAAA	AGCTATATCA	GTGACCAGAA	TAAATTGATC
O152	CTCACTACTG	GTGCTATTGA	CTATACAAAA	AGCTATATCA	GTGACCAGAA	TAAATTGATC
O164	CTCACTACTG	GTGCTATTGA	CTATACAAAA	AGCTATATCA	GTGACCAGAA	TAAATTGATC
O167	CTCACTACTG	GTGCTATTGA	CTATACAAAA	AGCTATATCA	GTGACCAGAA	TAAATTGATC
SHIGELLA 2	CTCACTACTG	GTGCTATTGA	CTATACAAAA	AGCTATATCA	GTGACCAGAA	TAAATTGATC
SHIGELLA 5	CTCACTACTG	GTGCTATTGA	CTATACAAAA	AGCTATATCA	GTGACCAGAA	TAAATTGATC
						
	1445	1455	1465	1475	1485	1495
O28	TACGGTTTGA	GCTGGAATGA	TACAGATGGC	GACAGTCATG	GAGAGTTCAA	TCTGAAAGAA
O29	TACGGTTTGA	GCTGGAATGA	TACAGATGGC	GACAGTCATG	GAGAGTTCAA	TCTGAAAGAA
O112	TACGGTTTGA	GCTGGAATGA	TACAGATGGC	GACAGTCATG	GAGAGTTCAA	TCTGAAAGAA
O124	TACGGTTTGA	GCTGGAATGA	TACAGATGGC	GACAGTCATG	GAGAGTTCAA	TCTGAAAGAA
O124H30	TACGGTTTGA	GCTGGAATGA	TACAGATGGC	GACAGTCATG	GAGAGTTCAA	TCTGAAAGAA
O136	TACGGTTTGA	GCTGGAATGA	TACAGATGGC	GACAGTCATG	GAGAGTTCAA	TCTGAAAGAA
O143	TACGGTTTGA	GCTGGAATGA	TACAGATGGC	GACAGTCATG	GAGAGTTCAA	TCTGAAAGAA
O144	TACGGTTTGA	GCTGGAATGA	TACAGATGGC	GACAGTCATG	GAGAGTTCAA	TCTGAAAGAA
O152	TACGGTTTGA	GCTGGAATGA	TACAGATGGC	GACAGTCATG	GAGAGTTCAA	TCTGAAAGAA
O164	TACGGTTTGA	GCTGGAATGA	TACAGATGGC	GACAGTCATG	GAGAGTTCAA	TCTGAAAGAA
O167	TACGGTTTGA	GCTGGAATGA	TACAGATGGC	GACAGTCATG	GAGAGTTCAA	TCTGAAAGAA
SHIGELLA 2	TACGGTTTGA	GCTGGAATGA	TACAGATGGC	GACAGTCATG	GAGAGTTCAA	TCTGAAAGAA
SHIGELLA 5	TACGGTTTGA	GCTGGAATGA	TACAGATGGC	GACAGTCATG	GAGAGTTCAA	TCTGAAAGAA

							
		1505	1515	1525	1535	1545	1555
O28		AACGCTGAAC	TTACTGTTAG	TACTATTCTG	GCAGATAATC	TCAGCCATCA	TAATATAAAAT
O29		AACGCTGAAC	TTACTGTTAG	TACTATTCTG	GCAGATAATC	TCAGCCATCA	TAATATAAAAT
O112		AACGCTGAAC	TTACTGTTAG	TACTATTCTG	GCAGATAATC	TCAGCCATCA	TAATATAAAAT
O124		AACGCTGAAC	TTACTGTTAG	TACTATTCTG	GCAGATAATC	TCAGCCATCA	TAATATAAAAT
O124H30		AACGCTGAAC	TTACTGTTAG	TACTATTCTG	GCAGATAATC	TCAGCCATCA	TAATATAAAAT
O136		AACGCTGAAC	TTACTGTTAG	TACTATTCTG	GCAGATAATC	TCAGCCATCA	TAATATAAAAT
O143		AACGCTGAAC	TTACTGTTAG	TACTATTCTG	GCAGATAATC	TCAGCCATCA	TAATATAAAAT
O144		AACGCTGAAC	TTACTGTTAG	TACTATTCTG	GCAGATAATC	TCAGCCATCA	TAATATAAAAT
O152		AACGCTGAAC	TTACTGTTAG	TACTATTCTG	GCAGATAATC	TCAGCCATCA	TAATATAAAAT
O164		AACGCTGAAC	TTACTGTTAG	TACTATTCTG	GCAGATAATC	TCAGCCATCA	TAATATAAAAT
O167		AACGCTGAAC	TTACTGTTAG	TACTATTCTG	GCAGATAATC	TCAGCCATCA	TAATATAAAAT
SHIGELLA 2		AACGCTGAAC	TTACTGTTAG	TACTATTCTG	GCAGATAATC	TCAGCCATCA	TAATATAAAAT
SHIGELLA 5		AACGCTGAAC	TTACTGTTAG	TACTATTCTG	GCAGATAATC	TCAGCCATCA	TAATATAAAAT
							
		1565	1575	1585	1595	1605	1615
O28		AGCTGGGACG	GAAAATCCCT	AACAAAATCA	GGGGAGGGAA	CTCTCATTTT	GGCGGAAAAA
O29		AGCTGGGACG	GAAAATCCCT	AACAAAATCA	GGGGAGGGAA	CTCTCATTTT	GGCGGAAAAA
O112		AGCTGGGACG	GAAAATCCCT	AACAAAATCA	GGGGAGGGAA	CTCTCATTTT	GGCGGAAAAA
O124		AGCTGGGACG	GAAAATCCCT	AACAAAATCA	GGGGAGGGAA	CTCTCATTTT	GGCGGAAAAA
O124H30		AGCTGGGACG	GAAAATCCCT	AACAAAATCA	GGGGAGGGAA	CTCTCATTTT	GGCGGAAAAA
O136		AGCTGGGACG	GAAAATCCCT	AACAAAATCA	GGGGAGGGAA	CTCTCATTTT	GGCGGAAAAA
O143		AGCTGGGACG	GAAAATCCCT	AACAAAATCA	GGGGAGGGAA	CTCTCATTTT	GGCGGAAAAA
O144		AGCTGGGACG	GAAAATCCCT	AACAAAATCA	GGGGAGGGAA	CTCTCATTTT	GGCGGAAAAA
O152		AGCTGGGACG	GAAAATCCCT	AACAAAATCA	GGGGAGGGAA	CTCTCATTTT	GGCGGAAAAA
O164		AGCTGGGACG	GAAAATCCCT	AACAAAATCA	GGGGAGGGAA	CTCTCATTTT	GGCGGAAAAA
O167		AGCTGGGACG	GAAAATCCCT	AACAAAATCA	GGGGAGGGAA	CTCTCATTTT	GGCGGAAAAA
SHIGELLA 2		AGCTGGGACG	GAAAATCCCT	AACAAAATCA	GGGGAGGGAA	CTCTCATTTT	GGCGGAAAAA
SHIGELLA 5		AGCTGGGACG	GAAAATCCCT	AACAAAATCA	GGGGAGGGAA	CTCTCATTTT	GGCGGAAAAA
							
		1625	1635	1645	1655	1665	1675
O28		AATACCTACT	CTGGTTTCAC	CAACATCAAT	GCAGGCATTC	TAAAAATGGG	GACAGTTGAA
O29		AATACCTACT	CTGGTTTCAC	CAACATCAAT	GCAGGCATTC	TAAAAATGGG	GACAGTTGAA
O112		AATACCTACT	CTGGTTTCAC	CAACATCAAT	GCAGGCATTC	TAAAAATGGG	GACAGTTGAA
O124		AATACCTACT	CTGGTTTCAC	CAACATCAAT	GCAGGCATTC	TAAAAATGGG	GACAGTTGAA
O124H30		AATACCTACT	CTGGTTTCAC	CAACATCAAT	GCAGGCATTC	TAAAAATGGG	GACAGTTGAA
O136		AATACCTACT	CTGGTTTCAC	CAACATCAAT	GCAGGCATTC	TAAAAATGGG	GACAGTTGAA
O143		AATACCTACT	CTGGTTTCAC	CAACATCAAT	GCAGGCATTC	TAAAAATGGG	GACAGTTGAA
O144		AATACCTACT	CTGGTTTCAC	CAACATCAAT	GCAGGCATTC	TAAAAATGGG	GACAGTTGAA
O152		AATACCTACT	CTGGTTTCAC	CAACATCAAT	GCAGGCATTC	TAAAAATGGG	GACAGTTGAA
O164		AATACCTACT	CTGGTTTCAC	CAACATCAAT	GCAGGCATTC	TAAAAATGGG	GACAGTTGAA
O167		AATACCTACT	CTGGTTTCAC	CAACATCAAT	GCAGGCATTC	TAAAAATGGG	GACAGTTGAA
SHIGELLA 2		AATACCTACT	CTGGTTTCAC	CAACATCAAT	GCAGGCATTC	TAAAAATGGG	GACAGTTGAA
SHIGELLA 5		AATACCTACT	CTGGTTTCAC	CAACATCAAT	GCAGGCATTC	TAAAAATGGG	GACAGTTGAA
							
		1685	1695	1705	1715	1725	1735
O28		GCTATGACAC	GTACCGCTGG	TGTTATTGTT	AATAAAGGTG	CTACCTTGAA	TTTTTCAGGC
O29		GCTATGACAC	GTACCGCTGG	TGTTATTGTT	AATAAAGGTG	CTACCTTGAA	TTTTTCAGGC
O112		GCTATGACAC	GTACCGCTGG	TGTTATTGTT	AATAAAGGTG	CTACCTTGAA	TTTTTCAGGC
O124		GCTATGACAC	GTACCGCTGG	TGTTATTGTT	AATAAAGGTG	CTACCTTGAA	TTTTTCAGGC
O124H30		GCTATGACAC	GTACCGCTGG	TGTTATTGTT	AATAAAGGTG	CTACCTTGAA	TTTTTCAGGC
O136		GCTATGACAC	GTACCGCTGG	TGTTATTGTT	AATAAAGGTG	CTACCTTGAA	TTTTTCAGGC
O143		GCTATGACAC	GTACCGCTGG	TGTTATTGTT	AATAAAGGTG	CTACCTTGAA	TTTTTCAGGC
O144		GCTATGACAC	GTACCGCTGG	TGTTATTGTT	AATAAAGGTG	CTACCTTGAA	TTTTTCAGGC
O152		GCTATGACAC	GTACCGCTGG	TGTTATTGTT	AATAAAGGTG	CTACCTTGAA	TTTTTCAGGC
O164		GCTATGACAC	GTACCGCTGG	TGTTATTGTT	AATAAAGGTG	CTACCTTGAA	TTTTTCAGGC
O167		GCTATGACAC	GTACCGCTGG	TGTTATTGTT	AATAAAGGTG	CTACCTTGAA	TTTTTCAGGC
SHIGELLA 2		GCTATGACAC	GTACCGCTGG	TGTTATTGTT	AATAAAGGTG	CTACCTTGAA	TTTTTCAGGC
SHIGELLA 5		GCTATGACAC	GTACCGCTGG	TGTTATTGTT	AATAAAGGTG	CTACCTTGAA	TTTTTCAGGC
							
		1745	1755	1765	1775	1785	1795
O28		ATGAACCAAA	CTGTTAACAC	TTTATTAAAT	AGTGGGACTG	TGCTAATCAA	TAATATTAAT
O29		ATGAACCAAA	CTGTTAACAC	TTTATTAAAT	AGTGGGACTG	TGCTAATCAA	TAATATTAAT

0112	ATGAACCAAA	CTGTTAACAC	TTTATTAAAT	AGTGGGACTG	TGCTAATCAA	TAATATTAAT
0124	ATGAACCAAA	CTGTTAACAC	TTTATTAAAT	AGTGGGACTG	TGCTAATCAA	TAATATTAAT
0124H30	ATGAACCAAA	CTGTTAACAC	TTTATTAAAT	AGTGGGACTG	TGCTAATCAA	TAATATTAAT
0136	ATGAACCAAA	CTGTTAACAC	TTTATTAAAT	AGTGGGACTG	TGCTAATCAA	TAATATTAAT
0143	ATGAACCAAA	CTGTTAACAC	TTTATTAAAT	AGTGGGACTG	TGCTAATCAA	TAATATTAAT
0144	ATGAACCAAA	CTGTTAACAC	TTTATTAAAT	AGTGGGACTG	TGCTAATCAA	TAATATTAAT
0152	ATGAACCAAA	CTGTTAACAC	TTTATTAAAT	AGTGGGACTG	TGCTAATCAA	TAATATTAAT
0164	ATGAACCAAA	CTGTTAACAC	TTTATTAAAT	AGTGGGACTG	TGCTAATCAA	TAATATTAAT
0167	ATGAACCAAA	CTGTTAACAC	TTTATTAAAT	AGTGGGACTG	TGCTAATCAA	TAATATTAAT
SHIGELLA 2	ATGAACCAAA	CTGTTAACAC	TTTATTAAAT	AGTGGGACTG	TGCTAATCAA	TAATATTAAT
SHIGELLA 5	ATGAACCAAA	CTGTTAACAC	TTTATTAAAT	AGTGGGACTG	TGCTAATCAA	TAATATTAAT
						
	1805	1815	1825	1835	1845	1855
028	GCCCCTTTTT	TGCCTGACCC	CGTCATTGTC	ACAGGTAACA	TGACTCTGGA	GAAAAACGGT
029	GCCCCTTTTT	TGCCTGACCC	CGTCATTGTC	ACAGGTAACA	TGACTCTGGA	GAAAAACGGT
0112	GCCCCTTTTT	TGCCTGACCC	CGTCATTGTC	ACAGGTAACA	TGACTCTGGA	GAAAAACGGT
0124	GCCCCTTTTT	TGCCTGACCC	CGTCATTGTC	ACAGGTAACA	TGACTCTGGA	GAAAAACGGT
0124H30	GCCCCTTTTT	TGCCTGACCC	CGTCATTGTC	ACAGGTAACA	TGACTCTGGA	GAAAAACGGT
0136	GCCCCTTTTT	TGCCTGACCC	CGTCATTGTC	ACAGGTAACA	TGACTCTGGA	GAAAAACGGT
0143	GCCCCTTTTT	TGCCTGACCC	CGTCATTGTC	ACAGGTAACA	TGACTCTGGA	GAAAAACGGT
0144	GCCCCTTTTT	TGCCTGACCC	CGTCATTGTC	ACAGGTAACA	TGACTCTGGA	GAAAAACGGT
0152	GCCCCTTTTT	TGCCTGACCC	CGTCATTGTC	ACAGGTAACA	TGACTCTGGA	GAAAAACGGT
0164	GCCCCTTTTT	TGCCTGACCC	CGTCATTGTC	ACAGGTAACA	TGACTCTGGA	GAAAAACGGT
0167	GCCCCTTTTT	TGCCTGACCC	CGTCATTGTC	ACAGGTAACA	TGACTCTGGA	GAAAAACGGT
SHIGELLA 2	GCCCCTTTTT	TGCCTGACCC	CGTCATTGTC	ACAGGTAACA	TGACTCTGGA	GAAAAACGGT
SHIGELLA 5	GCCCCTTTTT	TGCCTGACCC	CGTCATTGTC	ACAGGTAACA	TGACTCTGGA	GAAAAACGGT
						
	1865	1875	1885	1895	1905	1915
028	CATGTTATTC	TCAATAATAG	TTCGTCAAAT	GTCGGTCAGA	CCTATGTTCA	GAAAGGTAAT
029	CATGTTATTC	TCAATAATAG	TTCGTCAAAT	GTCGGTCAGA	CCTATGTTCA	GAAAGGTAAT
0112	CATGTTATTC	TCAATAATAG	TTCGTCAAAT	GTCGGTCAGA	CCTATGTTCA	GAAAGGTAAT
0124	CATGTTATTC	TCAATAATAG	TTCGTCAAAT	GTCGGTCAGA	CCTATGTTCA	GAAAGGTAAT
0124H30	CATGTTATTC	TCAATAATAG	TTCGTCAAAT	GTCGGTCAGA	CCTATGTTCA	GAAAGGTAAT
0136	CATGTTATTC	TCAATAATAG	TTCGTCAAAT	GTCGGTCAGA	CCTATGTTCA	GAAAGGTAAT
0143	CATGTTATTC	TCAATAATAG	TTCGTCAAAT	GTCGGTCAGA	CCTATGTTCA	GAAAGGTAAT
0144	CATGTTATTC	TCAATAATAG	TTCGTCAAAT	GTCGGTCAGA	CCTATGTTCA	GAAAGGTAAT
0152	CATGTTATTC	TCAATAATAG	TTCGTCAAAT	GTCGGTCAGA	CCTATGTTCA	GAAAGGTAAT
0164	CATGTTATTC	TCAATAATAG	TTCGTCAAAT	GTCGGTCAGA	CCTATGTTCA	GAAAGGTAAT
0167	CATGTTATTC	TCAATAATAG	TTCGTCAAAT	GTCGGTCAGA	CCTATGTTCA	GAAAGGTAAT
SHIGELLA 2	CATGTTATTC	TCAATAATAG	TTCGTCAAAT	GTCGGTCAGA	CCTATGTTCA	GAAAGGTAAT
SHIGELLA 5	CATGTTATTC	TCAATAATAG	TTCGTCAAAT	GTCGGTCAGA	CCTATGTTCA	GAAAGGTAAT
						
	1925	1935	1945	1955	1965	1975
028	TGGCATGGAA	AGGGCGGAAT	ATTATCTTTG	GGCGCGGTTT	TCGGCAATGA	CAACAGTAAA
029	TGGCATGGAA	AGGGCGGAAT	ATTATCTTTG	GGCGCGGTTT	TCGGCAATGA	CAACAGTAAA
0112	TGGCATGGAA	AGGGCGGAAT	ATTATCTTTG	GGCGCGGTTT	TCGGCAATGA	CAACAGTAAA
0124	TGGCATGGAA	AGGGCGGAAT	ATTATCTTTG	GGCGCGGTTT	TCGGCAATGA	CAACAGTAAA
0124H30	TGGCATGGAA	AGGGCGGAAT	ATTATCTTTG	GGCGCGGTTT	TCGGCAATGA	CAACAGTAAA
0136	TGGCATGGAA	AGGGCGGAAT	ATTATCTTTG	GGCGCGGTTT	TCGGCAATGA	CAACAGTAAA
0143	TGGCATGGAA	AGGGCGGAAT	ATTATCTTTG	GGCGCGGTTT	TCGGCAATGA	CAACAGTAAA
0144	TGGCATGGAA	AGGGCGGAAT	ATTATCTTTG	GGCGCGGTTT	TCGGCAATGA	CAACAGTAAA
0152	TGGCATGGAA	AGGGCGGAAT	ATTATCTTTG	GGCGCGGTTT	TCGGCAATGA	CAACAGTAAA
0164	TGGCATGGAA	AGGGCGGAAT	ATTATCTTTG	GGCGCGGTTT	TCGGCAATGA	CAACAGTAAA
0167	TGGCATGGAA	AGGGCGGAAT	ATTATCTTTG	GGCGCGGTTT	TCGGCAATGA	CAACAGTAAA
SHIGELLA 2	TGGCATGGAA	AGGGCGGAAT	ATTATCTTTG	GGCGCGGTTT	TCGGCAATGA	CAACAGTAAA
SHIGELLA 5	TGGCATGGAA	AGGGCGGAAT	ATTATCTTTG	GGCGCGGTTT	TCGGCAATGA	CAACAGTAAA
						
	1985	1995	2005	2015	2025	2035
028	ACTGACCGGC	TGGAAATTGC	AGGCCATGCG	TCTGGTATTA	CCTATGTTGC	AGTGACAAAT
029	ACTGACCGGC	TGGAAATTGC	AGGCCATGCG	TCTGGTATTA	CCTATGTTGC	AGTGACAAAT
0112	ACTGACCGGC	TGGAAATTGC	AGGCCATGCG	TCTGGTATTA	CCTATGTTGC	AGTGACAAAT
0124	ACTGACCGGC	TGGAAATTGC	AGGCCATGCG	TCTGGTATTA	CCTATGTTGC	AGTGACAAAT
0124H30	ACTGACCGGC	TGGAAATTGC	AGGCCATGCG	TCTGGTATTA	CCTATGTTGC	AGTGACAAAT
0136	ACTGACCGGC	TGGAAATTGC	AGGCCATGCG	TCTGGTATTA	CCTATGTTGC	AGTGACAAAT

0143	ACTGACCGGC	TGGAAATTGC	AGGCCATGCG	TCTGGTATTA	CCTATGTTGC	AGTGACAAAT
0144	ACTGACCGGC	TGGAAATTGC	AGGCCATGCG	TCTGGTATTA	CCTATGTTGC	AGTGACAAAT
0152	ACTGACCGGC	TGGAAATTGC	AGGCCATGCG	TCTGGTATTA	CCTATGTTGC	AGTGACAAAT
0164	ACTGACCGGC	TGGAAATTGC	AGGCCATGCG	TCTGGTATTA	CCTATGTTGC	AGTGACAAAT
0167	ACTGACCGGC	TGGAAATTGC	AGGCCATGCG	TCTGGTATTA	CCTATGTTGC	AGTGACAAAT
SHIGELLA 2	ACTGACCGGC	TGGAAATTGC	AGGCCATGCG	TCTGGTATTA	CCTATGTTGC	AGTGACAAAT
SHIGELLA 5	ACTGACCGGC	TGGAAATTGC	AGGCCATGCG	TCTGGTATTA	CCTATGTTGC	AGTGACAAAT
						
	2045	2055	2065	2075	2085	2095
028	GAGGGAGGCT	CTGGAGATAA	AACCTCTGAA	GGTGTTCAAA	TTATTTTCGAC	AGATTCTTCT
029	GAGGGAGGCT	CTGGAGATAA	AACCTCTGAA	GGTGTTCAAA	TTATTTTCGAC	AGATTCTTCT
0112	GAGGGAGGCT	CTGGAGATAA	AACCTCTGAA	GGTGTTCAAA	TTATTTTCGAC	AGATTCTTCT
0124	GAGGGAGGCT	CTGGAGATAA	AACCTCTGAA	GGTGTTCAAA	TTATTTTCGAC	AGATTCTTCT
0124H30	GAGGGAGGCT	CTGGAGATAA	AACCTCTGAA	GGTGTTCAAA	TTATTTTCGAC	AGATTCTTCT
0136	GAGGGAGGCT	CTGGAGATAA	AACCTCTGAA	GGTGTTCAAA	TTATTTTCGAC	AGATTCTTCT
0143	GAGGGAGGCT	CTGGAGATAA	AACCTCTGAA	GGTGTTCAAA	TTATTTTCGAC	AGATTCTTCT
0144	GAGGGAGGCT	CTGGAGATAA	AACCTCTGAA	GGTGTTCAAA	TTATTTTCGAC	AGATTCTTCT
0152	GAGGGAGGCT	CTGGAGATAA	AACCTCTGAA	GGTGTTCAAA	TTATTTTCGAC	AGATTCTTCT
0164	GAGGGAGGCT	CTGGAGATAA	AACCTCTGAA	GGTGTTCAAA	TTATTTTCGAC	AGATTCTTCT
0167	GAGGGAGGCT	CTGGAGATAA	AACCTCTGAA	GGTGTTCAAA	TTATTTTCGAC	AGATTCTTCT
SHIGELLA 2	GAGGGAGGCT	CTGGAGATAA	AACCTCTGAA	GGTGTTCAAA	TTATTTTCGAC	AGATTCTTCT
SHIGELLA 5	GAGGGAGGCT	CTGGAGATAA	AACCTCTGAA	GGTGTTCAAA	TTATTTTCGAC	AGATTCTTCT
						
	2105	2115	2125	2135	2145	2155
028	GATAAGAATG	CTTTTATTCA	GAAAGGCCGT	ATTGTTGCTG	GTAGTTATGA	CTATCGCCTG
029	GATAAGAATG	CTTTTATTCA	GAAAGGCCGT	ATTGTTGCTG	GTAGTTATGA	CTATCGCCTG
0112	GATAAGAATG	CTTTTATTCA	GAAAGGCCGT	ATTGTTGCTG	GTAGTTATGA	CTATCGCCTG
0124	GATAAGAATG	CTTTTATTCA	GAAAGGCCGT	ATTGTTGCTG	GTAGTTATGA	CTATCGCCTG
0124H30	GATAAGAATG	CTTTTATTCA	GAAAGGCCGT	ATTGTTGCTG	GTAGTTATGA	CTATCGCCTG
0136	GATAAGAATG	CTTTTATTCA	GAAAGGCCGT	ATTGTTGCTG	GTAGTTATGA	CTATCGCCTG
0143	GATAAGAATG	CTTTTATTCA	GAAAGGCCGT	ATTGTTGCTG	GTAGTTATGA	CTATCGCCTG
0144	GATAAGAATG	CTTTTATTCA	GAAAGGCCGT	ATTGTTGCTG	GTAGTTATGA	CTATCGCCTG
0152	GATAAGAATG	CTTTTATTCA	GAAAGGCCGT	ATTGTTGCTG	GTAGTTATGA	CTATCGCCTG
0164	GATAAGAATG	CTTTTATTCA	GAAAGGCCGT	ATTGTTGCTG	GTAGTTATGA	CTATCGCCTG
0167	GATAAGAATG	CTTTTATTCA	GAAAGGCCGT	ATTGTTGCTG	GTAGTTATGA	CTATCGCCTG
SHIGELLA 2	GATAAGAATG	CTTTTATTCA	GAAAGGCCGT	ATTGTTGCTG	GTAGTTATGA	CTATCGCCTG
SHIGELLA 5	GATAAGAATG	CTTTTATTCA	GAAAGGCCGT	ATTGTTGCTG	GTAGTTATGA	CTATCGCCTG
						
	2165	2175	2185	2195	2205	2215
028	AAACAGGGCA	CTGTATCTGG	ACTGAATACC	AATAAGTGGT	ATCTAACTAG	TCAGATGGAT
029	AAACAGGGCA	CTGTATCTGG	ACTGAATACC	AATAAGTGGT	ATCTAACTAG	TCAGATGGAT
0112	AAACAGGGCA	CTGCATCTGG	ACTGAATACC	AATAAGTGGT	ATCTAACTAG	TCAGATGGAT
0124	AAACAGGGCA	CTGTATCTGG	ACTGAATACC	AATAAGTGGT	ATCTAACTAG	TCAGATGGAT
0124H30	AAACAGGGCA	CTGTATCTGG	ACTGAATACC	AATAAGTGGT	ATCTAACTAG	TCAGATGGAT
0136	AAACAGGGCA	CTGTATCTGG	ACTGAATACC	AATAAGTGGT	ATCTAACTAG	TCAGATGGAT
0143	AAACAGGGCA	CTGTATCTGG	ACTGAATACC	AATAAGTGGT	ATCTAACTAG	TCAGATGGAT
0144	AAACAGGGCA	CTGTATCTGG	ACTGAATACC	AATAAGTGGT	ATCTAACTAG	TCAGATGGAT
0152	AAACAGGGCA	CTGTATCTGG	ACTGAATACC	AATAAGTGGT	ATCTAACTAG	TCAGATGGAT
0164	AAACAGGGCA	CTGTATCTGG	ACTGAATACC	AATAAGTGGT	ATCTAACTAG	TCAGATGGAT
0167	AAACAGGGCA	CTGTATCTGG	ACTGAATACC	AATAAGTGGT	ATCTAACTAG	TCAGATGGAT
SHIGELLA 2	AAACAGGGCA	CTGTATCTGG	ACTGAATACC	AATAAGTGGT	ATCTAACTAG	TCAGATGGAT
SHIGELLA 5	AAACAGGGCA	CTGCATCTGG	ACTGAATACC	AATAAGTGGT	ATCTAACTAG	TCAGATGGAT
						
	2225	2235	2245	2255	2265	2275
028	AATCAAGAAT	CAAAACAGAT	GAGCAATCAA	GAGTCTACTC	AAATGAGTAG	TCGCCGAGCT
029	AATCAAGAAT	CAAAACAGAT	GAGCAATCAA	GAGTCTACTC	AAATGAGTAG	TCGCCGAGCT
0112	AATCAAGAAT	CAAAACAGAT	GAGCAATCAA	GAGTCTACTC	AAATGAGTAG	TCGCCGAGCT
0124	AATCAAGAAT	CAAAACAGAT	GAGCAATCAA	GAGTCTACTC	AAATGAGTAG	TCGCCGAGCT
0124H30	AATCAAGAAT	CAAAACAGAT	GAGCAATCAA	GAGTCTACTC	AAATGAGTAG	TCGCCGAGCT
0136	AATCAAGAAT	CAAAACAGAT	GAGCAATCAA	GAGTCTACTC	AAATGAGTAG	TCGCCGAGCT
0143	AATCAAGAAT	CAAAACAGAT	GAGCAATCAA	GAGTCTACTC	AAATGAGTAG	TCGCCGAGCT
0144	AATCAAGAAT	CAAAACAGAT	GAGCAATCAA	GAGTCTACTC	AAATGAGTAG	TCGCCGAGCT
0152	AATCAAGAAT	CAAAACAGAT	GAGCAATCAA	GAGTCTACTC	AAATGAGTAG	TCGCCGAGCT
0164	AATCAAGAAT	CAAAACAGAT	GAGCAATCAA	GAGTCTACTC	AAATGAGTAG	TCGCCGAGCT

O167	AATCAAGAAT	CAAAACAGAT	GAGCAATCAA	GAGTCTACTC	AAATGAGTAG	TCGCCGAGCT
SHIGELLA 2	AATCAAGAAT	CAAAACAGAT	GAGCAATCAA	GAGTCTACTC	AAATGAGTAG	TCGCCGAGCT
SHIGELLA 5	AATCAAGAAT	CAAAACAGAT	GAGCAATCAA	GAGTCTACTC	AAATGAGTAG	TCGCCGAGCT
						
	2285	2295	2305	2315	2325	2335
O28	AGTTCACAGC	TTGTATCTTC	ACTTAATTTG	GGTGAAGGTA	GTATTCACAC	ATGGCGCCCT
O29	AGTTCACAGC	TTGTATCTTC	ACTTAATTTG	GGTGAAGGTA	GTATTCACAC	ATGGCGCCCT
O112	AGTTCACAGC	TTGTATCTTC	ACTTAATTTG	GGTGAAGGTA	GTATTCACAC	ATGGCGCCCT
O124	AGTTCACAGC	TTGTATCTTC	ACTTAATTTG	GGTGAAGGTA	GTATTCACAC	ATGGCGCCCT
O124H30	AGTTCACAGC	TTGTATCTTC	ACTTAATTTG	GGTGAAGGTA	GTATTCACAC	ATGGCGCCCT
O136	AGTTCACAGC	TTGTATCTTC	ACTTAATTTG	GGTGAAGGTA	GTATTCACAC	ATGGCGCCCT
O143	AGTTCACAGC	TTGTATCTTC	ACTTAATTTG	GGTGAAGGTA	GTATTCACAC	ATGGCGCCCT
O144	AGTTCACAGC	TTGTATCTTC	ACTTAATTTG	GGTGAAGGTA	GTATTCACAC	ATGGCGCCCT
O152	AGTTCACAGC	TTGTATCTTC	ACTTAATTTG	GGTGAAGGTA	GTATTCACAC	ATGGCGCCCT
O164	AGTTCACAGC	TTGTATCTTC	ACTTAATTTG	GGTGAAGGTA	GTATTCACAC	ATGGCGCCCT
O167	AGTTCACAGC	TTGTATCTTC	ACTTAATTTG	GGTGAAGGTA	GTATTCACAC	ATGGCGCCCT
SHIGELLA 2	AGTTCACAGC	TTGTATCTTC	ACTTAATTTG	GGTGAAGGTA	GTATTCACAC	ATGGCGCCCT
SHIGELLA 5	AGTTCACAGC	TTGTATCTTC	ACTTAATTTG	GGTGAAGGTA	GTATTCACAC	ATGGCGCCCT
						
	2345	2355	2365	2375	2385	2395
O28	GAAGCTGGCA	GTTATATTGC	TAACCTGATA	GCAATGAACA	CGATGTTTAG	TCCTTCTCTC
O29	GAAGCTGGCA	GTTATATTGC	TAACCTGATA	GCAATGAACA	CGATGTTTAG	TCCTTCTCTC
O112	GAAGCTGGCA	GTTATATTGC	TAACCTGATA	GCAATGAACA	CGATGTTTAG	TCCTTCTCTC
O124	GAAGCTGGCA	GTTATATTGC	TAACCTGATA	GCAATGAACA	CGATGTTTAG	TCCTTCTCTC
O124H30	GAAGCTGGCA	GTTATATTGC	TAACCTGATA	GCAATGAACA	CGATGTTTAG	TCCTTCTCTC
O136	GAAGCTGGCA	GTTATATTGC	TAACCTGATA	GCAATGAACA	CGATGTTTAG	TCCTTCTCTC
O143	GAAGCTGGCA	GTTATATTGC	TAACCTGATA	GCAATGAACA	CGATGTTTAG	TCCTTCTCTC
O144	GAAGCTGGCA	GTTATATTGC	TAACCTGATA	GCAATGAACA	CGATGTTTAG	TCCTTCTCTC
O152	GAAGCTGGCA	GTTATATTGC	TAACCTGATA	GCAATGAACA	CGATGTTTAG	TCCTTCTCTC
O164	GAAGCTGGCA	GTTATATTGC	TAACCTGATA	GCAATGAACA	CGATGTTTAG	TCCTTCTCTC
O167	GAAGCTGGCA	GTTATATTGC	TAACCTGATA	GCAATGAACA	CGATGTTTAG	TCCTTCTCTC
SHIGELLA 2	GAAGCTGGCA	GTTATATTGC	TAACCTGATA	GCAATGAACA	CGATGTTTAG	TCCTTCTCTC
SHIGELLA 5	GAAGCTGGCA	GTTATATTGC	TAACCTGATA	GCAATGAACA	CGATGTTTAG	TCCTTCTCTC
						
	2405	2415	2425	2435	2445	2455
O28	TATGACCGAC	ACGGTAGCAC	TATTGTTGAT	CCTACTACAG	GTCAGCTCAG	CGAAACCACC
O29	TATGACCGAC	ACGGTAGCAC	TATTGTTGAT	CCTACTACAG	GTCAGCTCAG	CGAAACCACC
O112	TATGACCGAC	ACGGTAGCAC	TATTGTTGAT	CCTACTACAG	GTCAGCTCAG	CGAAACCACC
O124	TATGACCGAC	ACGGTAGCAC	TATTGTTGAT	CCTACTACAG	GTCAGCTCAG	CGAAACCACC
O124H30	TATGACCGAC	ACGGTAGCAC	TATTGTTGAT	CCTACTACAG	GTCAGCTCAG	CGAAACCACC
O136	TATGACCGAC	ACGGTAGCAC	TATTGTTGAT	CCTACTACAG	GTCAGCTCAG	CGAAACCACC
O143	TATGACCGAC	ACGGTAGCAC	TATTGTTGAT	CCTACTACAG	GTCAGCTCAG	CGAAACCACC
O144	TATGACCGAC	ACGGTAGCAC	TATTGTTGAT	CCTACTACAG	GTCAGCTCAG	CGAAACCACC
O152	TATGACCGAC	ACGGTAGCAC	TATTGTTGAT	CCTACTACAG	GTCAGCTCAG	CGAAACCACC
O164	TATGACCGAC	ACGGTAGCAC	TATTGTTGAT	CCTACTACAG	GTCAGCTCAG	CGAAACCACC
O167	TATGACCGAC	ACGGTAGCAC	TATTGTTGAT	CCTACTACAG	GTCAGCTCAG	CGAAACCACC
SHIGELLA 2	TATGACCGAC	ACGGTAGCAC	TATTGTTGAT	CCTACTACAG	GTCAGCTCAG	CGAAACCACC
SHIGELLA 5	TATGACCGAC	ACGGTAGCAC	TATTGTTGAT	CCTACTACAG	GTCAGCTCAG	CGAAACCACC
						
	2465	2475	2485	2495	2505	2515
O28	ATGTGGATTC	GTACTGTTGG	TGGACATAAT	GAGCATAATT	TAGCTGATAG	ACAATTAAAA
O29	ATGTGGATTC	GTACTGTTGG	TGGACATAAT	GAGCATAATT	TAGCTGATAG	ACAATTAAAA
O112	ATGTGGATTC	GTACTGTTGG	TGGACATAAT	GAGCATAATT	TAGCTGATAG	ACAATTAAAA
O124	ATGTGGATTC	GTACTGTTGG	TGGACATAAT	GAGCATAATT	TAGCTGATAG	ACAATTAAAA
O124H30	ATGTGGATTC	GTACTGTTGG	TGGACATAAT	GAGCATAATT	TAGCTGATAG	ACAATTAAAA
O136	ATGTGGATTC	GTACTGTTGG	TGGACATAAT	GAGCATAATT	TAGCTGATAG	ACAATTAAAA
O143	ATGTGGATTC	GTACTGTTGG	TGGACATAAT	GAGCATAATT	TAGCTGATAG	ACAATTAAAA
O144	ATGTGGATTC	GTACTGTTGG	TGGACATAAT	GAGCATAATT	TAGCTGATAG	ACAATTAAAA
O152	ATGTGGATTC	GTACTGTTGG	TGGACATAAT	GAGCATAATT	TAGCTGATAG	ACAATTAAAA
O164	ATGTGGATTC	GTACTGTTGG	TGGACATAAT	GAGCATAATT	TAGCTGATAG	ACAATTAAAA
O167	ATGTGGATTC	GTACTGTTGG	TGGACATAAT	GAGCATAATT	TAGCTGATAG	ACAATTAAAA
SHIGELLA 2	ATGTGGATTC	GTACTGTTGG	TGGACATAAT	GAGCATAATT	TAGCTGATAG	ACAATTAAAA
SHIGELLA 5	ATGTGGATTC	GTACTGTTGG	TGGACATAAT	GAGCATAATT	TAGCTGATAG	ACAATTAAAA

							
		2525	2535	2545	2555	2565	2575
O28		ACCACAGCTA	ACAGGATGGT	TTATCAGATT	GGTGGAGATA	TTTTGAAGAC	AAACTTCACT
O29		ACCACAGCTA	ACAGGATGGT	TTATCAGATT	GGTGGAGATA	TTTTGAAGAC	AAACTTCACT
O112		ACCACAGCTA	ACAGGATGGT	TTATCAGATT	GGTGGAGATA	TTTTGAAGAC	AAACTTCACT
O124		ACCACAGCTA	ACAGGATGGT	TTATCAGATT	GGTGGAGATA	TTTTGAAGAC	AAACTTCACT
O124H30		ACCACAGCTA	ACAGGATGGT	TTATCAGATT	GGTGGAGATA	TTTTGAAGAC	AAACTTCACT
O136		ACCACAGCTA	ACAGGATGGT	TTATCAGATT	GGTGGAGATA	TTTTGAAGAC	AAACTTCACT
O143		ACCACAGCTA	ACAGGATGGT	TTATCAGATT	GGTGGAGATA	TTTTGAAGAC	AAACTTCACT
O144		ACCACAGCTA	ACAGGATGGT	TTATCAGATT	GGTGGAGATA	TTTTGAAGAC	AAACTTCACT
O152		ACCACAGCTA	ACAGGATGGT	TTATCAGATT	GGTGGAGATA	TTTTGAAGAC	AAACTTCACT
O164		ACCACAGCTA	ACAGGATGGT	TTATCAGATT	GGTGGAGATA	TTTTGAAGAC	AAACTTCACT
O167		ACCACAGCTA	ACAGGATGGT	TTATCAGATT	GGTGGAGATA	TTTTGAAGAC	AAACTTCACT
SHIGELLA 2		ACCACAGCTA	ACAGGATGGT	TTATCAGATT	GGTGGAGATA	TTTTGAAGAC	AAACTTCACT
SHIGELLA 5		ACCACAGCTA	ACAGGATGGT	TTATCAGATT	GGTGGAGATA	TTTTGAAGAC	AAACTTCACT
							
		2585	2595	2605	2615	2625	2635
O28		GATCATGATG	GCTTGCATGT	GGGTATTATG	GGAGCTTATG	GATATCAGGA	TAGCAAAACT
O29		GATCATGATG	GCTTGCATGT	GGGTATTATG	GGAGCTTATG	GATATCAGGA	TAGCAAAACT
O112		GATCATGATG	GCTTGCATGT	GGGTATTATG	GGAGCTTATG	GATATCAGGA	TAGCAAAACT
O124		GATCATGATG	GCTTGCATGT	GGGTATTATG	GGAGCTTATG	GATATCAGGA	TAGCAAAACT
O124H30		GATCATGATG	GCTTGCATGT	GGGTATTATG	GGAGCTTATG	GATATCAGGA	TAGCAAAACT
O136		GATCATGATG	GCTTGCATGT	GGGTATTATG	GGAGCTTATG	GATATCAGGA	TAGCAAAACT
O143		GATCATGATG	GCTTGCATGT	GGGTATTATG	GGAGCTTATG	GATATCAGGA	TAGCAAAACT
O144		GATCATGATG	GCTTGCATGT	GGGTATTATG	GGAGCTTATG	GATATCAGGA	TAGCAAAACT
O152		GATCATGATG	GCTTGCATGT	GGGTATTATG	GGAGCTTATG	GATATCAGGA	TAGCAAAACT
O164		GATCATGATG	GCTTGCATGT	GGGTATTATG	GGAGCTTATG	GATATCAGGA	TAGCAAAACT
O167		GATCATGATG	GCTTGCATGT	GGGTATTATG	GGAGCTTATG	GATATCAGGA	TAGCAAAACT
SHIGELLA 2		GATCATGATG	GCTTGCATGT	GGGTATTATG	GGAGCTTATG	GATATCAGGA	TAGCAAAACT
SHIGELLA 5		GATCATGATG	GCTTGCATGT	GGGTATTATG	GGAGCTTATG	GATATCAGGA	TAGCAAAACT
							
		2645	2655	2665	2675	2685	2695
O28		CATAATAAGT	ATACTAGTTA	TAGTTCACGA	GGAACGTGA	GCGGTTATAC	TGCCGGTTTG
O29		CATAATAAGT	ATACTAGTTA	TAGTTCACGA	GGAACGTGA	GCGGTTATAC	TGCCGGTTTG
O112		CATAATAAGT	ATACTAGTTA	TAGTTCACGA	GGAACGTGA	GCGGTTATAC	TGCCGGTTTG
O124		CATAATAAGT	ATACTAGTTA	TAGTTCACGA	GGAACGTGA	GCGGTTATAC	TGCCGGTTTG
O124H30		CATAATAAGT	ATACTAGTTA	TAGTTCACGA	GGAACGTGA	GCGGTTATAC	TGCCGGTTTG
O136		CATAATAAGT	ATACTAGTTA	TAGTTCACGA	GGAACGTGA	GCGGTTATAC	TGCCGGTTTG
O143		CATAATAAGT	ATACTAGTTA	TAGTTCACGA	GGAACGTGA	GCGGTTATAC	TGCCGGTTTG
O144		CATAATAAGT	ATACTAGTTA	TAGTTCACGA	GGAACGTGA	GCGGTTATAC	TGCCGGTTTG
O152		CATAATAAGT	ATACTAGTTA	TAGTTCACGA	GGAACGTGA	GCGGTTATAC	TGCCGGTTTG
O164		CATAATAAGT	ATACTAGTTA	TAGTTCACGA	GGAACGTGA	GCGGTTATAC	TGCCGGTTTG
O167		CATAATAAGT	ATACTAGTTA	TAGTTCACGA	GGAACGTGA	GCGGTTATAC	TGCCGGTTTG
SHIGELLA 2		CATAATAAGT	ATACTAGTTA	TAGTTCACGA	GGAACGTGA	GCGGTTATAC	TGCCGGTTTG
SHIGELLA 5		CATAATAAGT	ATACTAGTTA	TAGTTCACGA	GGAACGTGA	GCGGTTATAC	TGCCGGTTTG
							
		2705	2715	2725	2735	2745	2755
O28		TACAGTTCTT	GGTTTCAGGA	TGAAAAAGAA	CGAACAGGTC	TATATATGGA	TGCTTGGTTG
O29		TACAGTTCTT	GGTTTCAGGA	TGAAAAAGAA	CGAACAGGTC	TATATATGGA	TGCTTGGTTG
O112		TACAGTTCTT	GGTTTCAGGA	TGAAAAAGAA	CGAACAGGTC	TATATATGGA	TGCTTGGTTG
O124		TACAGTTCTT	GGTTTCAGGA	TGAAAAAGAA	CGAACAGGTC	TATATATGGA	TGCTTGGTTG
O124H30		TACAGTTCTT	GGTTTCAGGA	TGAAAAAGAA	CGAACAGGTC	TATATATGGA	TGCTTGGTTG
O136		TACAGTTCTT	GGTTTCAGGA	TGAAAAAGAA	CGAACAGGTC	TATATATGGA	TGCTTGGTTG
O143		TACAGTTCTT	GGTTTCAGGA	TGAAAAAGAA	CGAACAGGTC	TATATATGGA	TGCTTGGTTG
O144		TACAGTTCTT	GGTTTCAGGA	TGAAAAAGAA	CGAACAGGTC	TATATATGGA	TGCTTGGTTG
O152		TACAGTTCTT	GGTTTCAGGA	TGAAAAAGAA	CGAACAGGTC	TATATATGGA	TGCTTGGTTG
O164		TACAGTTCTT	GGTTTCAGGA	TGAAAAAGAA	CGAACAGGTC	TATATATGGA	TGCTTGGTTG
O167		TACAGTTCTT	GGTTTCAGGA	TGAAAAAGAA	CGAACAGGTC	TATATATGGA	TGCTTGGTTG
SHIGELLA 2		TACAGTTCTT	GGTTTCAGGA	TGAAAAAGAA	CGAACAGGTC	TATATATGGA	TGCTTGGTTG
SHIGELLA 5		TACAGTTCTT	GGTTTCAGGA	TGAAAAAGAA	CGAACAGGTC	TATATATGGA	TGCTTGGTTG
							
		2765	2775	2785	2795	2805	2815
O28		CAGTACGGTT	GGTTTAAATA	TACAGTCAAA	GGAGATGGGT	TAAGTGGTGA	GAAATATTCC
O29		CAGTACGGTT	GGTTTAAATA	TACAGTCAAA	GGAGATGGGT	TAAGTGGTGA	GAAATATTCC

0112	CAGTACGGTT	GGTTTAATAA	TACAGTCAAA	GGAGATGGGT	TAAGTGGTGA	GAAATATTCC
0124	CAGTACGGTT	GGTTTAATAA	TACAGTCAAA	GGAGATGGGT	TAAGTGGTGA	GAAATATTCC
0124H30	CAGTACGGTT	GGTTTAATAA	TACAGTCAAA	GGAGATGGGT	TAAGTGGTGA	GAAATATTCC
0136	CAGTACGGTT	GGTTTAATAA	TACAGTCAAA	GGAGATGGGT	TAAGTGGTGA	GAAATATTCC
0143	CAGTACGGTT	GGTTTAATAA	TACAGTCAAA	GGAGATGGGT	TAAGTGGTGA	GAAATATTCC
0144	CAGTACGGTT	GGTTTAATAA	TACAGTCAAA	GGAGATGGGT	TAAGTGGTGA	GAAATATTCC
0152	CAGTACGGTT	GGTTTAATAA	TACAGTCAAA	GGAGATGGGT	TAAGTGGTGA	GAAATATTCC
0164	CAGTACGGTT	GGTTTAATAA	TACAGTCAAA	GGAGATGGGT	TAAGTGGTGA	GAAATATTCC
0167	CAGTACGGTT	GGTTTAATAA	TACAGTCAAA	GGAGATGGGT	TAAGTGGTGA	GAAATATTCC
SHIGELLA 2	CAGTACAGTT	GGTTTAATAA	TACAGTCAAA	GGAGATGGGT	TAAGTGGTGA	GAAATATTCC
SHIGELLA 5	CAGTACAGTT	GGTTTAATAA	TACAGTCAAA	GGAGATGGGT	TAAGTGGTGA	GAAATATTCC
						
	2825	2835	2845	2855	2865	2875
028	AGCAAAGGAA	TAACAGGAGC	TTTGGGAAGCT	GGCTATATCT	ACCCAACCAT	ACGCTGGACT
029	AGCAAAGGAA	TAACAGGAGC	TTTGGGAAGCT	GGCTATATCT	ACCCAACCAT	ACGCTGGACT
0112	AGCAAAGGAA	TAACAGGAGC	TTTGGGAAGCT	GGCTATATCT	ACCCAACCAT	ACGCTGGACT
0124	AGCAAAGGAA	TAACAGGAGC	TTTGGGAAGCT	GGCTATATCT	ACCCAACCAT	ACGCTGGACT
0124H30	AGCAAAGGAA	TAACAGGAGC	TTTGGGAAGCT	GGCTATATCT	ACCCAACCAT	ACGCTGGACT
0136	AGCAAAGGAA	TAACAGGAGC	TTTGGGAAGCT	GGCTATATCT	ACCCAACCAT	ACGCTGGACT
0143	AGCAAAGGAA	TAACAGGAGC	TTTGGGAAGCT	GGCTATATCT	ACCCAACCAT	ACGCTGGACT
0144	AGCAAAGGAA	TAACAGGAGC	TTTGGGAAGCT	GGCTATATCT	ACCCAACCAT	ACGCTGGACT
0152	AGCAAAGGAA	TAACAGGAGC	TTTGGGAAGCT	GGCTATATCT	ACCCAACCAT	ACGCTGGACT
0164	AGCAAAGGAA	TAACAGGAGC	TTTGGGAAGCT	GGCTATATCT	ACCCAACCAT	ACGCTGGACT
0167	AGCAAAGGAA	TAACAGGAGC	TTTGGGAAGCT	GGCTATATCT	ACCCAACCAT	ACGCTGGACT
SHIGELLA 2	AGCAAAGGAA	TAACAGGAGC	TTTGGGAAGCT	GGCTATATCT	ACCCAACCAT	ACGCTGGACT
SHIGELLA 5	AGCAAAGGAA	TAACAGGAGC	TTTGGGAAGCT	GGCTATATCT	ACCCAACCAT	ACGCTGGACT
						
	2885	2895	2905	2915	2925	2935
028	GCTCATAATA	ATATTGACAA	CGCATTGTAT	CTCAATCCAC	AAGTCCAGAT	AAC TAGGCAT
029	GCTCATAATA	ATATTGACAA	CGCATTGTAT	CTCAATCCAC	AAGTCCAGAT	AAC TAGGCAT
0112	GCTCATAATA	ATATTGACAA	CGCATTGTAT	CTCAATCCAC	AAGTCCAGAT	AAC TAGGCAT
0124	GCTCATAATA	ATATTGACAA	CGCATTGTAT	CTCAATCCAC	AAGTCCAGAT	AAC TAGGCAT
0124H30	GCTCATAATA	ATATTGACAA	CGCATTGTAT	CTCAATCCAC	AAGTCCAGAT	AAC TAGGCAT
0136	GCTCATAATA	ATATTGACAA	CGCATTGTAT	CTCAATCCAC	AAGTCCAGAT	AAC TAGGCAT
0143	GCTCATAATA	ATATTGACAA	CGCATTGTAT	CTCAATCCAC	AAGTCCAGAT	AAC TAGGCAT
0144	GCTCATAATA	ATATTGACAA	CGCATTGTAT	CTCAATCCAC	AAGTCCAGAT	AAC TAGGCAT
0152	GCTCATAATA	ATATTGACAA	CGCATTGTAT	CTCAATCCAC	AAGTCCAGAT	AAC TAGGCAT
0164	GCTCATAATA	ATATTGACAA	CGCATTGTAT	CTCAATCCAC	AAGTCCAGAT	AAC TAGGCAT
0167	GCTCATAATA	ATATTGACAA	CGCATTGTAT	CTCAATCCAC	AAGTCCAGAT	AAC TAGGCAT
SHIGELLA 2	GCTCATAATA	ATATTGACAA	CGCATTGTAT	CTCAATCCAC	AAGTCCAGAT	AAC TAGGCAT
SHIGELLA 5	GCTCATAATA	ATATTGACAA	CGCATTGTAT	CTCAATCCAC	AAGTCCAGAT	AAC TAGGCAT
						
	2945	2955	2965	2975	2985	2995
028	GGGGTAAAAG	CAAACGACTA	TATTGAACAC	AATGGCACTA	TGGTCACATC	CTCTGGGGTC
029	GGGGTAAAAG	CAAACGACTA	TATTGAACAC	AATGGCACTA	TGGTCACATC	CTCTGGGGTC
0112	GGGGTAAAAG	CAAACGACTA	TATTGAACAC	AATGGCACTA	TGGTCACATC	CTCTGGGGTC
0124	GGGGTAAAAG	CAAACGACTA	TATTGAACAC	AATGGCACTA	TGGTCACATC	CTCTGGGGTC
0124H30	GGGGTAAAAG	CAAACGACTA	TATTGAACAC	AATGGCACTA	TGGTCACATC	CTCTGGGGTC
0136	GGGGTAAAAG	CAAACGACTA	TATTGAACAC	AATGGCACTA	TGGTCACATC	CTCTGGGGTC
0143	GGGGTAAAAG	CAAACGACTA	TATTGAACAC	AATGGCACTA	TGGTCACATC	CTCTGGGGTC
0144	GGGGTAAAAG	CAAACGACTA	TATTGAACAC	AATGGCACTA	TGGTCACATC	CTCTGGGGTC
0152	GGGGTAAAAG	CAAACGACTA	TATTGAACAC	AATGGCACTA	TGGTCACATC	CTCTGGGGTC
0164	GGGGTAAAAG	CAAACGACTA	TATTGAACAC	AATGGCACTA	TGGTCACATC	CTCTGGGGTC
0167	GGGGTAAAAG	CAAACGACTA	TATTGAACAC	AATGGCACTA	TGGTCACATC	CTCTGGGGTC
SHIGELLA 2	GGGGTAAAAG	CAAACGACTA	TATTGAACAC	AATGGCACTA	TGGTCACATC	CTCTGGGGTC
SHIGELLA 5	GGGGTAAAAG	CAAACGACTA	TATTGAACAC	AATGGCACTA	TGGTCACATC	CTCTGGGGTC
						
	3005	3015	3025	3035	3045	3055
028	AATAATATTC	AAGCAAAATT	GGGATTGCGT	ACATCCTTAA	TTAGTCAGAG	TTGTATCGAT
029	AATAATATTC	AAGCAAAATT	GGGATTGCGT	ACATCCTTAA	TTAGTCAGAG	TTGTATCGAT
0112	AATAATATTC	AAGCAAAATT	GGGATTGCGT	ACATCCTTAA	TTAGTCAGAG	TTGTATCGAT
0124	AATAATATTC	AAGCAAAATT	GGGATTGCGT	ACATCCTTAA	TTAGTCAGAG	TTGTATCGAT
0124H30	AATAATATTC	AAGCAAAATT	GGGATTGCGT	ACATCCTTAA	TTAGTCAGAG	TTGTATCGAT
0136	AATAATATTC	AAGCAAAATT	GGGATTGCGT	ACATCCTTAA	TTAGTCAGAG	TTGTATCGAT

O143	AATAATATTC	AAGCAAAATT	GGGATTGCGT	ACATCCTTAA	TTAGTCAGAG	TTGTATCGAT
O144	AATAATATTC	AAGCAAAATT	GGGATTGCGT	ACATCCTTAA	TTAGTCAGAG	TTGTATCGAT
O152	AATAATATTC	AAGCAAAATT	GGGATTGCGT	ACATCCTTAA	TTAGTCAGAG	TTGTATCGAT
O164	AATAATATTC	AAGCAAAATT	GGGATTGCGT	ACATCCTTAA	TTAGTCAGAG	TTGTATCGAT
O167	AATAATATTC	AAGCAAAATT	GGGATTGCGT	ACATCCTTAA	TTAGTCAGAG	TTGTATCGAT
SHIGELLA 2	AATAATATTC	AAGCAAAATT	GGGATTGCGT	ACATCCTTAA	TTAGTCAGAG	TTGTATCGAT
SHIGELLA 5	AATAATATTC	AAGCAAAATT	GGGATTGCGT	ACATCCTTAA	TTAGTCAGAG	TTGTATCGAT
						
	3065	3075	3085	3095	3105	3115
O28	AAGGAGACTC	TTCGTAAGTT	CGAACCATT	TTGGAAGTGA	ATTGGAAATG	GAGCTCAAAG
O29	AAGGAGACTC	TTCGTAAGTT	CGAACCATT	TTGGAAGTGA	ATTGGAAATG	GAGCTCAAAG
O112	AAGGAGACTC	TTCGTAAGTT	CGAACCATT	TTGGAAGTGA	ATTGGAAATG	GAGCTCAAAG
O124	AAGGAGACTC	TTCGTAAGTT	CGAACCATT	TTGGAAGTGA	ATTGGAAATG	GAGCTCAAAG
O124H30	AAGGAGACTC	TTCGTAAGTT	CGAACCATT	TTGGAAGTGA	ATTGGAAATG	GAGCTCAAAG
O136	AAGGAGACTC	TTCGTAAGTT	CGAACCATT	TTGGAAGTGA	ATTGGAAATG	GAGCTCAAAG
O143	AAGGAGACTC	TTCGTAAGTT	CGAACCATT	TTGGAAGTGA	ATTGGAAATG	GAGCTCAAAG
O144	AAGGAGACTC	TTCGTAAGTT	CGAACCATT	TTGGAAGTGA	ATTGGAAATG	GAGCTCAAAG
O152	AAGGAGACTC	TTCGTAAGTT	CGAACCATT	TTGGAAGTGA	ATTGGAAATG	GAGCTCAAAG
O164	AAGGAGACTC	TTCGTAAGTT	CGAACCATT	TTGGAAGTGA	ATTGGAAATG	GAGCTCAAAG
O167	AAGGAGACTC	TTCGTAAGTT	CGAACCATT	TTGGAAGTGA	ATTGGAAATG	GAGCTCAAAG
SHIGELLA 2	AAGGAGACTC	TTCGTAAGTT	CGAACCATT	TTGGAAGTGA	ATTGGAAATG	GAGCTCAAAG
SHIGELLA 5	AAGGAGACTC	TTCGTAAGTT	CGAACCATT	TTGGAAGTGA	ATTGGAAATG	GAGCTCAAAG
						
	3125	3135	3145	3155	3165	3175
O28	CAATATGGTG	TAATTATGAA	TGGCATGTCA	AATCACCAGA	TAGGCAACCG	TAATGTGATT
O29	CAATATGGTG	TAATTATGAA	TGGCATGTCA	AATCACCAGA	TAGGCAACCG	TAATGTGATT
O112	CAATATGGTG	TAATTATGAA	TGGCATGTCA	AATCACCAGA	TAGGCAACCG	TAATGTGATT
O124	CAATATGGTG	TAATTATGAA	TGGCATGTCA	AATCACCAGA	TAGGCAACCG	TAATGTGATT
O124H30	CAATATGGTG	TAATTATGAA	TGGCATGTCA	AATCACCAGA	TAGGCAACCG	TAATGTGATT
O136	CAATATGGTG	TAATTATGAA	TGGCATGTCA	AATCACCAGA	TAGGCAACCG	TAATGTGATT
O143	CAATATGGTG	TAATTATGAA	TGGCATGTCA	AATCACCAGA	TAGGCAACCG	TAATGTGATT
O144	CAATATGGTG	TAATTATGAA	TGGCATGTCA	AATCACCAGA	TAGGCAACCG	TAATGTGATT
O152	CAATATGGTG	TAATTATGAA	TGGCATGTCA	AATCACCAGA	TAGGCAACCG	TAATGTGATT
O164	CAATATGGTG	TAATTATGAA	TGGCATGTCA	AATCACCAGA	TAGGCAACCG	TAATGTGATT
O167	CAATATGGTG	TAATTATGAA	TGGCATGTCA	AATCACCAGA	TAGGCAACCG	TAATGTGATT
SHIGELLA 2	CAATATGGTG	TAATTATGAA	TGGCATGTCA	AATCACCAGA	TAGGCAACCG	TAATGTGATT
SHIGELLA 5	CAATATGGTG	TAATTATGAA	TGGCATGTCA	AATCACCAGA	TAGGCAACCG	TAATGTGATT
						
	3185	3195	3205	3215	3225	3235
O28	GAACTCAAAA	CTGGTGTGGG	GGGGCGTCTT	GCAGATAACC	TAAGCATCGG	GGGAAACGTA
O29	GAACTCAAAA	CTGGTGTGGG	GGGGCGTCTT	GCAGATAACC	TAAGCATCGG	GGGAAACGTA
O112	GAACTCAAAA	CTGGTGTGGG	GGGGCGTCTT	GCAGATAACC	TAAGCATCGG	GGGAAACGTA
O124	GAACTCAAAA	CTGGTGTGGG	GGGGCGTCTT	GCAGATAACC	TAAGCATCGG	GGGAAACGTA
O124H30	GAACTCAAAA	CTGGTGTGGG	GGGGCGTCTT	GCAGATAACC	TAAGCATCGG	GGGAAACGTA
O136	GAACTCAAAA	CTGGTGTGGG	GGGGCGTCTT	GCAGATAACC	TAAGCATCGG	GGGAAACGTA
O143	GAACTCAAAA	CTGGTGTGGG	GGGGCGTCTT	GCAGATAACC	TAAGCATCGG	GGGAAACGTA
O144	GAACTCAAAA	CTGGTGTGGG	GGGGCGTCTT	GCAGATAACC	TAAGCATCGG	GGGAAACGTA
O152	GAACTCAAAA	CTGGTGTGGG	GGGGCGTCTT	GCAGATAACC	TAAGCATCGG	GGGAAACGTA
O164	GAACTCAAAA	CTGGTGTGGG	GGGGCGTCTT	GCAGATAACC	TAAGCATCGG	GGGAAACGTA
O167	GAACTCAAAA	CTGGTGTGGG	GGGGCGTCTT	GCAGATAACC	TAAGCATCGG	GGGAAACGTA
SHIGELLA 2	GAACTCAAAA	CTGGTGTGGG	GGGGCGTCTT	GCAGATAACC	TAAGCATCTG	GGGAAACGTA
SHIGELLA 5	GAACTCAAAA	CTGGTGTGGG	GGGGCGTCTT	GCAGATAACC	TAAGCATCTG	GGGAAACGTA
						
	3245	3255	3265	3275	3285	3295
O28	TCTCAGCAAT	TGGGTAATAA	CAGTTACAGA	GACACCCAAG	GTATTTTGGG	TGTGAAATAT
O29	TCTCAGCAAT	TGGGTAATAA	CAGTTACAGA	GACACCCAAG	GTATTTTGGG	TGTGAAATAT
O112	TCTCAGCAAT	TGGGTAATAA	CAGTTACAGA	GACACCCAAG	GTATTTTGGG	TGTGAAATAT
O124	TCTCAGCAAT	TGGGTAATAA	CAGTTACAGA	GACACCCAAG	GTATTTTGGG	TGTGAAATAT
O124H30	TCTCAGCAAT	TGGGTAATAA	CAGTTACAGA	GACACCCAAG	GTATTTTGGG	TGTGAAATAT
O136	TCTCAGCAAT	TGGGTAATAA	CAGTTACAGA	GACACCCAAG	GTATTTTGGG	TGTGAAATAT
O143	TCTCAGCAAT	TGGGTAATAA	CAGTTACAGA	GACACCCAAG	GTATTTTGGG	TGTGAAATAT
O144	TCTCAGCAAT	TGGGTAATAA	CAGTTACAGA	GACACCCAAG	GTATTTTGGG	TGTGAAATAT
O152	TCTCAGCAAT	TGGGTAATAA	CAGTTACAGA	GACACCCAAG	GTATTTTGGG	TGTGAAATAT
O164	TCTCAGCAAT	TGGGTAATAA	CAGTTACAGA	GACACCCAAG	GTATTTTGGG	TGTGAAATAT

O167	TCTCAGCAAT	TGGGTAATAA	CAGTTACAGA	GACACCCAAG	GTATTTTGGG	TGTGAAATAT
SHIGELLA 2	TCTCAGCAAT	TGGGTAATAA	CAGTTACAGA	GACACCCAAG	GTATTTTGGG	TGTGAAATAT
SHIGELLA 5	TCTCAGCAAT	TGGGTAATAA	CAGTTACAGA	GACACCCAAG	GTATTTTGGG	TGTGAAATAT

....|....

3305

O28	ACCTTCTGA
O29	ACCTTCTGA
O112	ACCTTCTGA
O124	ACCTTCTGA
O124H30	ACCTTCTGA
O136	ACCTTCTGA
O143	ACCTTCTGA
O144	ACCTTCTGA
O152	ACCTTCTGA
O164	ACCTTCTGA
O167	ACCTTCTGA
SHIGELLA 2	ACCTTCTGA
SHIGELLA 5	ACCTTCTGA

ANEXO B – Sequenciamento *icsB*

						
	5	15	25	35	45	55
O28	ATGAGCCTCA	AAATTAGCAA	TTTCATTGAC	GCAAGCAATA	CAAAAGGGCC	TATACGCGTT
O29	ATGAGCCTCA	AAATTAGCAA	TTTCATTGAC	GCAAGCAATA	CAAAAGGGCC	TATACGCGTT
O112	ATGAGCCTCA	AAATTAGCAA	TTTCATTGAC	GCAAGCAATA	CAAAAGGGCC	TATACGCGTT
O124	ATGAGCCTCA	AAATTAGCAA	TTTCATTGAC	GCAAGCAATA	CAAAAGGGCC	TATACGCGTT
O124:H30	ATGAGCCTCA	AAATTAGCAA	TTTCATTGAC	GCAAGCAATA	CAAAAGGGCC	TATACGCGTT
O136	ATGAGCCTCA	AAATTAGCAA	TTTCATTGAC	GCAAGCAATA	CAAAAGGGCC	TATACGCGTT
O143	ATGAGCCTCA	AAATTAGCAA	TTTCATTGAC	GCAAGCAATA	CAAAAGGGCC	TATACGCGTT
O144	ATGAGCCTCA	AAATTAGCAA	TTTCATTGAC	GCAAGCAATA	CAAAAGGGCC	TATACGCGTT
O152	ATGAGCCTCA	AAATTAGCAA	TTTCATTGAC	GCAAGCAATA	CAAAAGGGCC	TATACGCGTT
O164	ATGAGCCTCA	AAATTAGCAA	TTTCATTGAC	GCAAGCAATA	CAAAAGGGCC	TATACGCGTT
O167	ATGAGCCTCA	AAATTAGCAA	TTTCATTGAC	GCAAGCAATA	CAAAAGGGCC	TATACGCGTT
SHIGELLA 2	ATGATCCTCA	AAATTAGCAA	TTTCATTGAC	GCAAGCAATA	CAAAAGGGCC	TATACGCGTT
SHIGELA 5A	ATGAGCCTCA	AAATTAGCAA	TTTCATTGAC	GCAAGCAATA	CAAAAGGGCC	TATACGCGTT
						
	65	75	85	95	105	115
O28	GAAGATACAG	AGCATGGACC	TATATTGGTA	GCACAGAAAT	TCAACCTAAA	GGATCTCTTT
O29	GAAGATACAG	AGCATGGACC	TATATTGATA	GCACAGAAAT	TCAACCTAAA	GGATCTCTTT
O112	GAAGATACAG	AGCATGGACC	TATATTGGTA	GCACAGAAAT	TCAACCTAAA	GGATCTCTTT
O124	GAAGATACAG	AGCATGGACC	TATATTGGTA	GCACAGAAAT	TCAACCTAAA	GGATCTCTTT
O124:H30	GAAGATACAG	AGCATGGACC	TATATTGGTA	GCACAGAAAT	TCAACCTAAA	GGATCTCTTT
O136	GAAGATACAG	AGCATGGACC	TATATTGGTA	GCACAGAAAT	TCAACCTAAA	GGATCTCTTT
O143	GAAGATACAG	AGCATGGACC	TATATTGGTA	GCACAGAAAT	TCAACCTAAA	GGATCTCTTT
O144	GAAGATACAG	AGCATGGACC	TATATTGGTA	GCACAGAAAT	TCAACCTAAA	GGATCTCTTT
O152	GAAGATACAG	AGCATGGACC	TATATTGGTA	GCACAGAAAT	TCAACCTAAA	GGATCTCTTT
O164	GAAGATACAG	AGCATGGACC	TATATTGGTA	GCACAGAAAT	TCAACCTAAA	GGATCTCTTT
O167	GAAGATACAG	AGCATGGACC	TATATTGGTA	GCACAGAAAT	TCAACCTAAA	GGATCTCTTT
SHIGELLA 2	GAAGATACAG	AGCATGGACC	TATATTGATA	GCACAGAAAT	TCAACCTAAA	GGATCTCTTT
SHIGELA 5A	GAAGATACAG	AGCATGGACC	TATATTGATA	GCACAGAAAT	TCAACCTAAA	GGATCTCTTT
						
	125	135	145	155	165	175
O28	TTCAGAACAT	TAAGCACTAT	TAATGCAAAG	ATAAATTCAC	AGATATTAAA	TGAACAACTA
O29	TTCAGAACAT	TAAGCACTAT	TAATGCAAAG	ATAAATTCAC	AGATATTAAA	TGAACAACTA
O112	TTCAGAACAT	TAAGCACTAT	TAATGCAAAG	ATAAATTCAC	AGATATTAAA	TGAACAACTA
O124	TTCAGAACAT	TAAGCACTAT	TAATGCAAAG	ATAAATTCAC	AGATATTAAA	TGAACAACTA
O124:H30	TTCAGAACAT	TAAGCACTAT	TAATGCAAAG	ATAAATTCAC	AGATATTAAA	TGAACAACTA
O136	TTCAGAACAT	TAAGCACTAT	TAATGCAAAG	ATAAATTCAC	AGATATTAAA	TGAACAACTA
O143	TTCAGAACAT	TAAGCACTAT	TAATGCAAAG	ATAAATTCAC	AGATATTAAA	TGAACAACTA
O144	TTCAGAACAT	TAAGCACTAT	TAATGCAAAG	ATAAATTCAC	AGATATTAAA	TGAACAACTA
O152	TTCAGAACAT	TAAGCACTAT	TAATGCAAAG	ATAAATTCAC	AGATATTAAA	TGAACAACTA
O164	TTCAGAACAT	TAAGCACTAT	TAATGCAAAG	ATAAATTCAC	AGATATTAAA	TGAACAACTA
O167	TTCAGAACAT	TAAGCACTAT	TAATGCAAAG	ATAAATTCAC	AGATATTAAA	TGAACAACTA
SHIGELLA 2	TTCAGAACAT	TAAGCACTAT	TAATGCAAAG	ATAAATTCAC	AGATATTAAA	TGAACAACTA
SHIGELA 5A	TTCAGAACAT	TAAGCACTAT	TAATGCAAAG	ATAAATTCAC	AGATATTAAA	TGAACAACTA
						
	185	195	205	215	225	235
O28	AAAAATTATC	GACTAGCGAA	TCAAAAATCC	TTATTGCTTT	TCCTCAAGAC	ATTAGCTAGC
O29	AAAAATTATC	GACTAGCGAA	TCAAAAATCC	TTATTGCTTT	TCCTCAAGAC	ATTAGCTAGC
O112	AAAAATTATC	GACTAGCGAA	TCAAAAATCC	TTATTGCTTT	TCCTCAAGAC	ATTAGCTAGC
O124	AAAAATTATC	GACTAGCGAA	TCAAAAATCC	TTATTGCTTT	TCCTCAAGAC	ATTAGCTAGC
O124:H30	AAAAATTATC	GACTAGCGAA	TCAAAAATCC	TTATTGCTTT	TCCTCAAGAC	ATTAGCTAGC
O136	AAAAATTATC	GACTAGCGAA	TCAAAAATCC	TTATTGCTTT	TCCTCAAGAC	ATTAGCTAGC
O143	AAAAATTATC	GACTAGCGAA	TCAAAAATCC	TTATTGCTTT	TCCTCAAGAC	ATTAGCTAGC
O144	AAAAATTATC	GACTAGCGAA	TCAAAAATCC	TTATTGCTTT	TCCTCAAGAC	ATTAGCTAGC
O152	AAAAATTATC	GACTAGCGAA	TCAAAAATCC	TTATTGCTTT	TCCTCAAGAC	ATTAGCTAGC
O164	AAAAATTATC	GACTAGCGAA	TCAAAAATCC	TTATTGCTTT	TCCTCAAGAC	ATTAGCTAGC

0167	AAAAATTATC	GA CTAGCGAA	TCAAAAATCC	TTATTGCTTT	TCCTCAAGAC	ATTAGCTAGC
SHIGELLA 2	AAAAATTATC	GA CTAGAGAA	TCAAAAATCC	TTATTGCTTT	TCCTCAATAC	ATTAGCTAGC
SHIGELA 5A	AAAAATTATC	GA CTAGAGAA	TCAAAAATCC	TTATTGCTTT	TCCTCAATAC	ATTAGCTAGC
						
	245	255	265	275	285	295
028	GAAAAATCTG	CAGAAAGTGC	GTTTGCCGCC	TATGAAGCAG	CTAAAAATTC	AATTCAACAT
029	GAAAAATCTG	CAGAAAGTGC	GTTTGCCGCC	TATGAAGCAG	CTAAAAATTC	AATTCAACAT
0112	GAAAAATCTG	CAGAAAGTGC	GTTTGCCGCC	TATGAAGCAG	CTAAAAATTC	AATTCAACAT
0124	GAAAAATCTG	CAGAAAGTGC	GTTTGCCGCC	TATGAAGCAG	CTAAAAATTC	AATTCAACAT
0124:H30	GAAAAATCTG	CAGAAAGTGC	GTTTGCCGCC	TATGAAGCAG	CTAAAAATTC	AATTCAACAT
0136	GAAAAATCTG	CAGAAAGTGC	GTTTGCCGCC	TATGAAGCAG	CTAAAAATTC	AATTCAACAT
0143	GAAAAATCTG	CAGAAAGTGC	GTTTGCCGCC	TATGAAGCAG	CTAAAAATTC	AATTCAACAT
0144	GAAAAATCTG	CAGAAAGTGC	GTTTGCCGCC	TATGAAGCAG	CTAAAAATTC	AATTCAACAT
0152	GAAAAATCTG	CAGAAAGTGC	GTTTGCCGCC	TATGAAGCAG	CTAAAAATTC	AATTCAACAT
0164	GAAAAATCTG	CAGAAAGTGC	GTTTGCCGCC	TATGAAGCAG	CTAAAAATTC	AATTCAACAT
0167	GAAAAATCTG	CAGAAAGTGC	GTTTGCCGCC	TATGAAGCAG	CTAAAAATTC	AATTCAACAT
SHIGELLA 2	GAAAAATCTG	CAGAAAGTGC	GTTTGCCGCC	TATGAAGCAG	CTAAAAACTC	AATTCAACAC
SHIGELA 5A	GAAAAATCTG	CAGAAAGTGC	GTTTGCCGCC	TATGAAGCAG	CTAAAAACTC	AATTCAACAC
						
	305	315	325	335	345	355
028	TCTTTTACAG	GTAAAGACAT	CAAATTAATG	TTGAATACCG	CAGAGCGTTT	TCATGGCATC
029	TCTTTTACAG	GTAAAGACAT	CAAATTAATG	TTGAATACCG	CAGAGCGTTT	TCATGGCATC
0112	TCTTTTACAG	GTAAAGACAT	CAAATTAATG	TTGAATACCG	CAGAGCGTTT	TCATGGCATC
0124	TCTTTTACAG	GTAAAGACAT	CAAATTAATG	TTGAATACCG	CAGAGCGTTT	TCATGGCATC
0124:H30	TCTTTTACAG	GTAAAGACAT	CAAATTAATG	TTGAATACCG	CAGAGCGTTT	TCATGGCATC
0136	TCTTTTACAG	GTAAAGACAT	CAAATTAATG	TTGAATACCG	CAGAGCGTTT	TCATGGCATC
0143	TCTTTTACAG	GTAAAGACAT	CAAATTAATG	TTGAATACCG	CAGAGCGTTT	TCATGGCATC
0144	TCTTTTACAG	GTAAAGACAT	CAAATTAATG	TTGAATACCG	CAGAGCGTTT	TCATGGCATC
0152	TCTTTTACAG	GTAAAGACAT	CAAATTAATG	TTGAATACCG	CAGAGCGTTT	TCATGGCATC
0164	TCTTTTACAG	GTAAAGACAT	CAAATTAATG	TTGAATACCG	CAGAGCGTTT	TCATGGCATC
0167	TCTTTTACAG	GTAAAGACAT	CAAATTAATG	TTGAATACCG	CAGAGCGTTT	TCATGGCATC
SHIGELLA 2	TCTTTCACAG	GTAGAGACAT	CAAATTAATG	TTGAATACCG	CAGAGCGTTT	TCATGGCATC
SHIGELA 5A	TCTTTCACAG	GTAGAGACAT	CAAATTAATG	TTGAATACCG	CAGAGCGTTT	TCATGGCATC
						
	365	375	385	395	405	415
028	GGTACAGCCA	AAAATCTTGA	AAGACATTTA	GTGTTTCGTT	GCTGGGGAAA	TAGAGGCATA
029	GGTACAGCCA	AAAATCTTGA	AAGACATTTA	GTGTTTCGTT	GCTGGGGAAA	TAGAGGCATA
0112	GGTACAGCCA	AAAATCTTGA	AAGACATTTA	GTGTTTCGTT	GCTGGGGAAA	TAGAGGCATA
0124	GGTACAGCCA	AAAATCTTGA	AAGACATTTA	GTGTTTCGTT	GCTGGGGAAA	TAGAGGCATA
0124:H30	GGTACAGCCA	AAAATCTTGA	AAGACATTTA	GTGTTTCGTT	GCTGGGGAAA	TAGAGGCATA
0136	GGTACAGCCA	AAAATCTTGA	AAGACATTTA	GTGTTTCGTT	GCTGGGGAAA	TAGAGGCATA
0143	GGTACAGCCA	AAAATCTTGA	AAGACATTTA	GTGTTTCGTT	GCTGGGGAAA	TAGAGGCATA
0144	GGTACAGCCA	AAAATCTTGA	AAGACATTTA	GTGTTTCGTT	GCTGGGGAAA	TAGAGGCATA
0152	GGTACAGCCA	AAAATCTTGA	AAGACATTTA	GTGTTTCGTT	GCTGGGGAAA	TAGAGGCATA
0164	GGTACAGCCA	AAAATCTTGA	AAGACATTTA	GTGTTTCGTT	GCTGGGGAAA	TAGAGGCATA
0167	GGTACAGCCA	AAAATCTTGA	AAGACATTTA	GTGTTTCGTT	GCTGGGGAAA	TAGAGGCATA
SHIGELLA 2	GGTACAGCCA	AAAATCTTGA	AAGACATTTA	GTGTTTCGTT	GCTGGGGAAA	TAGAGGCATA
SHIGELA 5A	GGTACAGCCA	AAAATCTTGA	AAGACATTTA	GTGTTTCGTT	GCTGGGGAAA	TAGAGGCATA
						
	425	435	445	455	465	475
028	ACCCATTTAG	GGCATAACCAG	TATCAGTATA	AAAAACAATT	TACTACAGGA	ACCAACTCAT
029	ACCCATTTAG	GGCATAACCAG	TATCAGTATA	AAAAACAATT	TACTACAGGA	ACCAACTCAT
0112	ACCCATTTAG	GGCATAACCAG	TATCAGTATA	AAAAACAATT	TACTACAGGA	ACCAACTCAT
0124	ACCCATTTAG	GGCATAACCAG	TATCAGTATA	AAAAACAATT	TACTACAGGA	ACCAACTCAT
0124:H30	ACCCATTTAG	GGCATAACCAG	TATCAGTATA	AAAAACAATT	TACTACAGGA	ACCAACTCAT
0136	ACCCATTTAG	GGCATAACCAG	TATCAGTATA	AAAAACAATT	TACTACAGGA	ACCAACTCAT
0143	ACCCATTTAG	GGCATAACCAG	TATCAGTATA	AAAAACAATT	TACTACAGGA	ACCAACTCAT
0144	ACCCATTTAG	GGCATAACCAG	TATCAGTATA	AAAAACAATT	TACTACAGGA	ACCAACTCAT
0152	ACCCATTTAG	GGCATAACCAG	TATCAGTATA	AAAAACAATT	TACTACAGGA	ACCAACTCAT
0164	ACCCATTTAG	GGCATAACCAG	TATCAGTATA	AAAAACAATT	TACTACAGGA	ACCAACTCAT
0167	ACCCATTTAG	GGCATAACCAG	TATCAGTATA	AAAAACAATT	TACTACAGGA	ACCAACTCAT
SHIGELLA 2	ACCCATTTAG	GGCATACTAG	TATCAGTATA	AAAAACAATT	TACTACAGGA	ACCAACTCAT
SHIGELA 5A	ACCCATTTAG	GGCATACTAG	TATCAGTATA	AAAAACAATT	TACTACAGGA	ACCAACTCAT

							
		485	495	505	515	525	535
O28		ACCTATCTCA	GCTGGTATCC	CGGCGGGAAT	GTTACAAAAG	ATACAGAAAT	AAACTACCTT
O29		ACCTATCTCA	GCTGGTATCC	CGGCGGGAAT	GTTACAAAAG	ATACAGAAAT	AAACTACCTT
O112		ACCTATCTCA	GCTGGTATCC	CGGCGGGAAT	GTTACAAAAG	ATACAGAAAT	AAACTACCTT
O124		ACCTATCTCA	GCTGGTATCC	CGGCGGGAAT	GTTACAAAAG	ATACAGAAAT	AAACTACCTT
O124:H30		ACCTATCTCA	GCTGGTATCC	CGGCGGGAAT	GTTACAAAAG	ATACAGAAAT	AAACTACCTT
O136		ACCTATCTCA	GCTGGTATCC	CGGCGGGAAT	GTTACAAAAG	ATACAGAAAT	AAACTACCTT
O143		ACCTATCTCA	GCTGGTATCC	CGGCGGGAAT	GTTACAAAAG	ATACAGAAAT	AAACTACCTT
O144		ACCTATCTCA	GCTGGTATCC	CGGCGGGAAT	GTTACAAAAG	ATACAGAAAT	AAACTACCTT
O152		ACCTATCTCA	GCTGGTATCC	CGGCGGGAAT	GTTACAAAAG	ATACAGAAAT	AAACTACCTT
O164		ACCTATCTCA	GCTGGTATCC	CGGCGGGAAT	GTTACAAAAG	ATACAGAAAT	AAACTACCTT
O167		ACCTATCTCA	GCTGGTATCC	CGGCGGGAAT	GTTACAAAAG	ATACAGAAAT	AAACTACCTT
SHIGELLA 2		ACCTATCTCA	GCTGGTATCC	CGGCGGGAAT	GTTACAAAAG	ATACAGAAAT	AAACTACCTT
SHIGELA 5A		ACCTATCTCA	GCTGGTATCC	CGGCGGGAAT	GTTACAAAAG	ATACAGAAAT	AAACTACCTT
							
		545	555	565	575	585	595
O28		TTTGAAAAAC	GCTCAGGTTA	CAGTGTCGAT	ACCTATAAAC	AAGACAAACT	AAATATGATT
O29		TTTGAAAAAC	GCTCAGGTTA	CAGTGTCGAT	ACCTATAAAC	AAGACAAACT	AAATATGATT
O112		TTTGAAAAAC	GCTCAGGTTA	CAGTGTCGAT	ACCTATAAAC	AAGACAAACT	AAATATGATT
O124		TTTGAAAAAC	GCTCAGGTTA	CAGTGTCGAT	ACCTATAAAC	AAGACAAACT	AAATATGATT
O124:H30		TTTGAAAAAC	GCTCAGGTTA	CAGTGTCGAT	ACCTATAAAC	AAGACAAACT	AAATATGATT
O136		TTTGAAAAAC	GCTCAGGTTA	CAGTGTCGAT	ACCTATAAAC	AAGACAAACT	AAATATGATT
O143		TTTGAAAAAC	GCTCAGGTTA	CAGTGTCGAT	ACCTATAAAC	AAGACAAACT	AAATATGATT
O144		TTTGAAAAAC	GCTCAGGTTA	CAGTGTCGAT	ACCTATAAAC	AAGACAAACT	AAATATGATT
O152		TTTGAAAAAC	GCTCAGGTTA	CAGTGTCGAT	ACCTATAAAC	AAGACAAACT	AAATATGATT
O164		TTTGAAAAAC	GCTCAGGTTA	CAGTGTCGAT	ACCTATAAAC	AAGACAAACT	AAATATGATT
O167		TTTGAAAAAC	GCTCAGGTTA	CAGTGTCGAT	ACCTATAAAC	AAGACAAACT	AAATATGATT
SHIGELLA 2		TTTGAAAAAC	GCTCAGGTTA	CAGTGTCGAT	ACCTATAAAG	AAGACAAACT	AAATATGATT
SHIGELA 5A		TTTGAAAAAC	GCTCAGGTTA	CAGTGTCGAT	ACCTATAAAG	AAGACAAACT	AAATATGATT
							
		605	615	625	635	645	655
O28		TCAGACCAAA	CAGCCGAAAG	ACTTGATGCA	GGCCAAGAGG	TTAGAAACTT	ATTAAATTCA
O29		TCAGACCAAA	CAGCCGAAAG	ACTTGATGCA	GGCCAAGAGG	TTAGAAACTT	ATTAAATTCA
O112		TCAGACCAAA	CAGCCGAAAG	ACTTGATGCA	GGCCAAGAGG	TTAGAAACTT	ATTAAATTCA
O124		TCAGACCAAA	CAGCCGAAAG	ACTTGATGCA	GGCCAAGAGG	TTAGAAACTT	ATTAAATTCA
O124:H30		TCAGACCAAA	CAGCCGAAAG	ACTTGATGCA	GGCCAAGAGG	TTAGAAACTT	ATTAAATTCA
O136		TCAGACCAAA	CAGCCGAAAG	ACTTGATGCA	GGCCAAGAGG	TTAGAAACTT	ATTAAATTCA
O143		TCAGACCAAA	CAGCCGAAAG	ACTTGATGCA	GGCCAAGAGG	TTAGAAACTT	ATTAAATTCA
O144		TCAGACCAAA	CAGCCGAAAG	ACTTGATGCA	GGCCAAGAGG	TTAGAAACTT	ATTAAATTCA
O152		TCAGACCAAA	CAGCCGAAAG	ACTTGATGCA	GGCCAAGAGG	TTAGAAACTT	ATTAAATTCA
O164		TCAGACCAAA	CAGCCGAAAG	ACTTGATGCA	GGCCAAGAGG	TTAGAAACTT	ATTAAATTCA
O167		TCAGACCAAA	CAGCCGAAAG	ACTTGATGCA	GGCCAAGAGG	TTAGAAACTT	ATTAAATTCA
SHIGELLA 2		TCAGACCAAA	CAGCCGAAAG	ACTTGATGCA	GGCCAAGAGG	TTAGAAACTT	ATTAAATTCA
SHIGELA 5A		TCAGACCAAA	CAGCCGAAAG	ACTTGATGCA	GGCCAAGAGG	TTAGAAACTT	ATTAAATTCA
							
		665	675	685	695	705	715
O28		AAACAAGATC	AAAATAACAA	CAAAAAAATA	TTTTTTCCCA	GAGCTAATCA	AAAAAAAGAC
O29		AAACAAGATC	AAAATAACAA	CAAAAAAATA	TTTTTTCCCA	GAGCTAATCA	AAAAAAAGAC
O112		AAACAAGATC	AAAATAACAA	CAAAAAAATA	TTTTTTCCCA	GAGCTAATCA	AAAAAAAGAC
O124		AAACAAGATC	AAAATAACAA	CAAAAAAATA	TTTTTTCCCA	GAGCTAATCA	AAAAAAAGAC
O124:H30		AAACAAGATC	AAAATAACAA	CAAAAAAATA	TTTTTTCCCA	GAGCTAATCA	AAAAAAAGAC
O136		AAACAAGATC	AAAATAACAA	CAAAAAAATA	TTTTTTCCCA	GAGCTAATCA	AAAAAAAGAC
O143		AAACAAGATC	AAAATAACAA	CAAAAAAATA	TTTTTTCCCA	GAGCTAATCA	AAAAAAAGAC
O144		AAACAAGATC	AAAATAACAA	CAAAAAAATA	TTTTTTCCCA	GAGCTAATCA	AAAAAAAGAC
O152		AAACAAGATC	AAAATAACAA	CAAAAAAATA	TTTTTTCCCA	GAGCTAATCA	AAAAAAAGAC
O164		AAACAAGATC	AAAATAACAA	CAAAAAAATA	TTTTTTCCCA	GAGCTAATCA	AAAAAAAGAC
O167		AAACAAGATC	AAAATAACAA	CAAAAAAATA	TTTTTTCCCA	GAGCTAATCA	AAAAAAAGAC
SHIGELLA 2		AAACAAGATC	AAAATAACAA	CAAAAAAATA	TTTTTTCCCA	GAGCTAATCA	AAAAAAAGAC
SHIGELA 5A		AAACAAGATC	AAAATAACAA	CAAAAAAATA	TTTTTTCCCA	GAGCTAATCA	AAAAAAAGAC
							
		725	735	745	755	765	775
O28		CCCTATGGTT	ATTGGGGGGT	CAGTGCTGAT	AAAGTATACA	TTCCATTATC	AGGTGATAAT
O29		CCCTATGGTT	ATTGGGGGGT	CAGTGCTGAT	AAAGTATACA	TTCCATTATC	AGGTGATAAT

0112	CCCTATGGTT	ATTGGGGGGT	CAGTGCTGAT	AAAGTATACA	TTCCATTATC	AGGTGATAAT
0124	CCCTATGGTT	ATTGGGGGGT	CAGTGCTGAT	AAAGTATACA	TTCCATTATC	AGGTGATAAT
0124:H30	CCCTATGGTT	ATTGGGGGGT	CAGTGCTGAT	AAAGTATACA	TTCCATTATC	AGGTGATAAT
0136	CCCTATGGTT	ATTGGGGGGT	CAGTGCTGAT	AAAGTATACA	TTCCATTATC	AGGTGATAAT
0143	CCCTATGGTT	ATTGGGGGGT	CAGTGCTGAT	AAAGTATACA	TTCCATTATC	AGGTGATAAT
0144	CCCTATGGTT	ATTGGGGGGT	CAGTGCTGAT	AAAGTATACA	TTCCATTATC	AGGTGATAAT
0152	CCCTATGGTT	ATTGGGGGGT	CAGTGCTGAT	AAAGTATACA	TTCCATTATC	AGGTGATAAT
0164	CCCTATGGTT	ATTGGGGGGT	CAGTGCTGAT	AAAGTATACA	TTCCATTATC	AGGTGATAAT
0167	CCCTATGGTT	ATTGGGGGGT	CAGTGCTGAT	AAAGTATACA	TTCCATTATC	AGGTGATAAT
SHIGELLA 2	CCCTATGGTT	ATTGGGGGGT	CAGTGCTGAT	AAAGTATACA	TTCCATTATC	AGGTGATAAT
SHIGELA 5A	CCCTATGGTT	ATTGGGGGGT	CAGTGCTGAT	AAAGTATACA	TTCCATTATC	AGGTGATAAT
						
	785	795	805	815	825	835
028	AAAACAAAGG	ATGGTAAAAAT	CAGCTATAAC	CTTTTTGGCC	TTGATGAAAC	AAACATGTCA
029	AAAACAAAGG	ATGGTAAAAAT	CAGCTATAAC	CTTTTTGGCC	TTGATGAAAC	AAACATGTCA
0112	AAAACAAAGG	ATGGTAAAAAT	CAGCTATAAC	CTTTTTGGCC	TTGATGAAAC	AAACATGTCA
0124	AAAACAAAGG	ATGGTAAAAAT	CAGCTATAAC	CTTTTTGGCC	TTGATGAAAC	AAACATGTCA
0124:H30	AAAACAAAGG	ATGGTAAAAAT	CAGCTATAAC	CTTTTTGGCC	TTGATGAAAC	AAACATGTCA
0136	AAAACAAAGG	ATGGTAAAAAT	CAGCTATAAC	CTTTTTGGCC	TTGATGAAAC	AAACATGTCA
0143	AAAACAAAGG	ATGGTAAAAAT	CAGCTATAAC	CTTTTTGGCC	TTGATGAAAC	AAACATGTCA
0144	AAAACAAAGG	ATGGTAAAAAT	CAGCTATAAC	CTTTTTGGCC	TTGATGAAAC	AAACATGTCA
0152	AAAACAAAGG	ATGGTAAAAAT	CAGCTATAAC	CTTTTTGGCC	TTGATGAAAC	AAACATGTCA
0164	AAAACAAAGG	ATGGTAAAAAT	CAGCTATAAC	CTTTTTGGCC	TTGATGAAAC	AAACATGTCA
0167	AAAACAAAGG	ATGGTAAAAAT	CAGCTATAAC	CTTTTTGGCC	TTGATGAAAC	AAACATGTCA
SHIGELLA 2	AAAACAAAGG	ATGGTAAAAAT	CAGCTATAAC	CTTTTTGGCC	TTGATGAAAC	AAACATGTCA
SHIGELA 5A	AAAACAAAGG	ATGGTAAAAAT	CAGCTATAAC	CTTTTTGGCC	TTGATGAAAC	AAACATGTCA
						
	845	855	865	875	885	895
028	AAATTTATAT	GCCAAAAGAA	AGCAGATGCT	TTCAGACAAT	TGGCAAATTA	TAAATTAATC
029	AAATTTATAT	GCCAAAAGAA	AGCAGATGCT	TTCAGACAAT	TGGCAAATTA	TAAATTAATC
0112	AAATTTATAT	GCCAAAAGAA	AGCAGATGCT	TTCAGACAAT	TGGCAAATTA	TAAATTAATC
0124	AAATTTATAT	GCCAAAAGAA	AGCAGATGCT	TTCAGACAAT	TGGCAAATTA	TAAATTAATC
0124:H30	AAATTTATAT	GCCAAAAGAA	AGCAGATGCT	TTCAGACAAT	TGGCAAATTA	TAAATTAATC
0136	AAATTTATAT	GCCAAAAGAA	AGCAGATGCT	TTCAGACAAT	TGGCAAATTA	TAAATTAATC
0143	AAATTTATAT	GCCAAAAGAA	AGCAGATGCT	TTCAGACAAT	TGGCAAATTA	TAAATTAATC
0144	AAATTTATAT	GCCAAAAGAA	AGCAGATGCT	TTCAGACAAT	TGGCAAATTA	TAAATTAATC
0152	AAATTTATAT	GCCAAAAGAA	AGCAGATGCT	TTCAGACAAT	TGGCAAATTA	TAAATTAATC
0164	AAATTTATAT	GCCAAAAGAA	AGCAGATGCT	TTCAGACAAT	TGGCAAATTA	TAAATTAATC
0167	AAATTTATAT	GCCAAAAGAA	AGCAGATGCT	TTCAGACAAT	TGGCAAATTA	TAAATTAATC
SHIGELLA 2	AAATTTATAT	GCCAAAAGAA	AGCAGATGCT	TTCAGACAAT	TGGCAAATTA	TAAATTAATC
SHIGELA 5A	AAATTTATAT	GCCAAAAGAA	AGCAGATGCT	TTCAGACAAT	TGGCAAATTA	TAAATTAATC
						
	905	915	925	935	945	955
028	AGTAAATCTG	AAAACGTGTC	TGGTATGGCA	CTTAATGTTC	TTAAAGCAGG	AAATTCTGAA
029	AGTAAATCTG	AAAACGTGTC	TGGTATGGCA	CTTAATGTTC	TTAAAGCAGG	AAATTCTGAA
0112	AGTAAATCTG	AAAACGTGTC	TGGTATGGCA	CTTAATGTTC	TTAAAGCAGG	AAATTCTGAA
0124	AGTAAATCTG	AAAACGTGTC	TGGTATGGCA	CTTAATGTTC	TTAAAGCAGG	AAATTCTGAA
0124:H30	AGTAAATCTG	AAAACGTGTC	TGGTATGGCA	CTTAATGTTC	TTAAAGCAGG	AAATTCTGAA
0136	AGTAAATCTG	AAAACGTGTC	TGGTATGGCA	CTTAATGTTC	TTAAAGCAGG	AAATTCTGAA
0143	AGTAAATCTG	AAAACGTGTC	TGGTATGGCA	CTTAATGTTC	TTAAAGCAGG	AAATTCTGAA
0144	AGTAAATCTG	AAAACGTGTC	TGGTATGGCA	CTTAATGTTC	TTAAAGCAGG	AAATTCTGAA
0152	AGTAAATCTG	AAAACGTGTC	TGGTATGGCA	CTTAATGTTC	TTAAAGCAGG	AAATTCTGAA
0164	AGTAAATCTG	AAAACGTGTC	TGGTATGGCA	CTTAATGTTC	TTAAAGCAGG	AAATTCTGAA
0167	AGTAAATCTG	AAAACGTGTC	TGGTATGGCA	CTTAATGTTC	TTAAAGCAGG	AAATTCTGAA
SHIGELLA 2	AGTAAATCTG	AAAACGTGTC	TGGTATGGCA	CTTAATGTTC	TTAAAGCAGG	AAATTCTGAA
SHIGELA 5A	AGTAAATCTG	AAAACGTGTC	TGGTATGGCA	CTTAATGTTC	TTAAAGCAGG	AAATTCTGAA
						
	965	975	985	995	1005	1015
028	ATATACTTTC	CACCTCCCTGA	CGTTAAATTG	GTTGCTACAC	CTAACAATGT	ATACGCGTAT
029	ATATACTTTC	CACCTCCCTGA	CGTTAAATTG	GTTGCTACAC	CTAACAATGT	ATACGCGTAT
0112	ATATACTTTC	CACCTCCCTGA	CGTTAAATTG	GTTGCTACAC	CTAACAATGT	ATACGCGTAT
0124	ATATACTTTC	CACCTCCCTGA	CGTTAAATTG	GTTGCTACAC	CTAACAATGT	ATACGCGTAT
0124:H30	ATATACTTTC	CACCTCCCTGA	CGTTAAATTG	GTTGCTACAC	CTAACAATGT	ATACGCGTAT
0136	ATATACTTTC	CACCTCCCTGA	CGTTAAATTG	GTTGCTACAC	CTAACAATGT	ATACGCGTAT

0143	ATATACTTTC	CACTCCCTGA	CGTTAAATTG	GTTGCTACAC	CTAACAATGT	ATACGCGTAT
0144	ATATACTTTC	CACTCCCTGA	CGTTAAATTG	GTTGCTACAC	CTAACAATGT	ATACGCGTAT
0152	ATATACTTTC	CACTCCCTGA	CGTTAAATTG	GTTGCTACAC	CTAACAATGT	ATACGCGTAT
0164	ATATACTTTC	CACTCCCTGA	CGTTAAATTG	GTTGCTACAC	CTAACAATGT	ATACGCGTAT
0167	ATATACTTTC	CACTCCCTGA	CGTTAAATTG	GTTGCTACAC	CTAACAATGT	ATACGCGTAT
SHIGELLA 2	ATATACTTTC	CACTCCCTGA	CGTTAAATTG	GTTGCTACAC	CTAACGATGT	ATACGCGTAT
SHIGELA 5A	ATATACTTTC	CACTCCCTGA	CGTTAAATTG	GTTGCTACAC	CTAACGATGT	ATACGCGTAT
						
	1025	1035	1045	1055	1065	1075
028	GCAAATAAAG	TTAGGCAACG	CATTGAAAGT	CTCAATCAGT	CTTATAACGA	GATAATGAAG
029	GCAAATAAAG	TTAGGCAACG	CATTGAAAGT	CTCAATCAGT	CTTATAACGA	GATAATGAAG
0112	GCAAATAAAG	TTAGGCAACG	CATTGAAAGT	CTCAATCAGT	CTTATAACGA	GATAATGAAG
0124	GCAAATAAAG	TTAGGCAACG	CATTGAAAGT	CTCAATCAGT	CTTATAACGA	GATAATGAAG
0124:H30	GCAAATAAAG	TTAGGCAACG	CATTGAAAGT	CTCAATCAGT	CTTATAACGA	GATAATGAAG
0136	GCAAATAAAG	TTAGGCAACG	CATTGAAAGT	CTCAATCAGT	CTTATAACGA	GATAATGAAG
0143	GCAAATAAAG	TTAGGCAACG	CATTGAAAGT	CTCAATCAGT	CTTATAACGA	GATAATGAAG
0144	GCAAATAAAG	TTAGGCAACG	CATTGAAAGT	CTCAATCAGT	CTTATAACGA	GATAATGAAG
0152	GCAAATAAAG	TTAGGCAACG	CATTGAAAGT	CTCAATCAGT	CTTATAACGA	GATAATGAAG
0164	GCAAATAAAG	TTAGGCAACG	CATTGAAAGT	CTCAATCAGT	CTTATAACGA	GATAATGAAG
0167	GCAAATAAAG	TTAGGCAACG	CATTGAAAGT	CTCAATCAGT	CTTATAACGA	GATAATGAAG
SHIGELLA 2	GCAAATAAAG	TTAGGCAACG	CATTGAAAGT	CTCAATCAGT	CTTATAACGA	AATAATGAAG
SHIGELA 5A	GCAAATAAAG	TTAGGCAACG	CATTGAAAGT	CTCAATCAGT	CTTATAACGA	AATAATGAAG
						
	1085	1095	1105	1115	1125	1135
028	TATATTGAAT	CTGATTTTGA	TCTTTCCAGA	TTGACTCAAT	TACGACGTAG	CTATCTTAAA
029	TATATTGAAT	CTGATTTTGA	TCTTTCCAGA	TTGACTCAAT	TACGACGTAG	CTATCTTAAA
0112	TATATTGAAT	CTGATTTTGA	TCTTTCCAGA	TTGACTCAAT	TACGACGTAG	CTATCTTAAA
0124	TATATTGAAT	CTGATTTTGA	TCTTTCCAGA	TTGACTCAAT	TACGACGTAG	CTATCTTAAA
0124:H30	TATATTGAAT	CTGATTTTGA	TCTTTCCAGA	TTGACTCAAT	TACGACGTAG	CTATCTTAAA
0136	TATATTGAAT	CTGATTTTGA	TCTTTCCAGA	TTGACTCAAT	TACGACGTAG	CTATCTTAAA
0143	TATATTGAAT	CTGATTTTGA	TCTTTCCAGA	TTGACTCAAT	TACGACGTAG	CTATCTTAAA
0144	TATATTGAAT	CTGATTTTGA	TCTTTCCAGA	TTGACTCAAT	TACGACGTAG	CTATCTTAAA
0152	TATATTGAAT	CTGATTTTGA	TCTTTCCAGA	TTGACTCAAT	TACGACGTAG	CTATCTTAAA
0164	TATATTGAAT	CTGATTTTGA	TCTTTCCAGA	TTGACTCAAT	TACGACGTAG	CTATCTTAAA
0167	TATATTGAAT	CTGATTTTGA	TCTTTCCAGA	TTGACTCAAT	TACGACGTAG	CTATCTTAAA
SHIGELLA 2	TATATTGAAT	CTGATTTTGA	TCTTTCCAGA	TTGACTCAAT	TACGACGCAG	CTATCTTAAA
SHIGELA 5A	TATATTGAAT	CTGATTTTGA	TCTTTCCAGA	TTGACTCAAT	TACGACGCAG	CTATCTTAAA
						
	1145	1155	1165	1175	1185	1195
028	AGTTTCAATA	AAATTAACCT	TATCCACACC	CCAAAAACAT	TCAAGCCTTT	ATCAATTTCA
029	AGTTTCAATA	AAATTAACCT	TATCCACACC	CCAAAAACAT	TCAAGCCTTT	ATCAATTTCA
0112	AGTTTCAATA	AAATTAACCT	TATCCACACC	CCAAAAACAT	TCAAGCCTTT	ATCAATTTCA
0124	AGTTTCAATA	AAATTAACCT	TATCCACACC	CCAAAAACAT	TCAAGCCTTT	ATCAATTTCA
0124:H30	AGTTTCAATA	AAATTAACCT	TATCCACACC	CCAAAAACAT	TCAAGCCTTT	ATCAATTTCA
0136	AGTTTCAATA	AAATTAACCT	TATCCACACC	CCAAAAACAT	TCAAGCCTTT	ATCAATTTCA
0143	AGTTTCAATA	AAATTAACCT	TATCCACACC	CCAAAAACAT	TCAAGCCTTT	ATCAATTTCA
0144	AGTTTCAATA	AAATTAACCT	TATCCACACC	CCAAAAACAT	TCAAGCCTTT	ATCAATTTCA
0152	AGTTTCAATA	AAATTAACCT	TATCCACACC	CCAAAAACAT	TCAAGCCTTT	ATCAATTTCA
0164	AGTTTCAATA	AAATTAACCT	TATCCACACC	CCAAAAACAT	TCAAGCCTTT	ATCAATTTCA
0167	AGTTTCAATA	AAATTAACCT	TATCCACACC	CCAAAAACAT	TCAAGCCTTT	ATCAATTTCA
SHIGELLA 2	AGTTTCAATA	AAATTAACCT	TATCCACACA	CCAAAAACAT	TCAAGCCTTT	ATCAATTTCA
SHIGELA 5A	AGTTTCAATA	AAATTAACCT	TATCCACACA	CCAAAAACAT	TCAAGCCTTT	ATCAATTTCA
						
	1205	1215	1225	1235	1245	1255
028	CTTTACAAAC	ATCCTACTGA	AAATGTATCT	TCAGAAGACT	TTGATGCGGT	CATCAACGCT
029	CTTTACAAAC	ATCCTACTGA	AAATGTATCT	TCAGAAGACT	TTGATGCGGT	CATCAACGCT
0112	CTTTACAAAC	ATCCTACTGA	AAATGTATCT	TCAGAAGACT	TTGATGCGGT	CATCAACGCT
0124	CTTTACAAAC	ATCCTACTGA	AAATGTATCT	TCAGAAGACT	TTGATGCGGT	CATCAACGCT
0124:H30	CTTTACAAAC	ATCCTACTGA	AAATGTATCT	TCAGAAGACT	TTGATGCGGT	CATCAACGCT
0136	CTTTACAAAC	ATCCTACTGA	AAATGTATCT	TCAGAAGACT	TTGATGCGGT	CATCAACGCT
0143	CTTTACAAAC	ATCCTACTGA	AAATGTATCT	TCAGAAGACT	TTGATGCGGT	CATCAACGCT
0144	CTTTACAAAC	ATCCTACTGA	AAATGTATCT	TCAGAAGACT	TTGATGCGGT	CATCAACGCT
0152	CTTTACAAAC	ATCCTACTGA	AAATGTATCT	TCAGAAGACT	TTGATGCGGT	CATCAACGCT
0164	CTTTACAAAC	ATCCTACTGA	AAATGTATCT	TCAGAAGACT	TTGATGCGGT	CATCAACGCT

O167	CTTTACAAAC	ATCCTACTGA	AAATGTATCT	TCAGAAGACT	TTGATGCGGT	CATCAACGCT
SHIGELLA 2	CTTTACAAAC	ATCCTACTGA	AAATGTATCT	TCAGAAGACT	TTGATGCGGT	CATCAACGCT
SHIGELA 5A	CTTTACAAAC	ATCCTACTGA	AAATGTATCT	TCAGAAGACT	TTGATGCGGT	CATCAACGCT
						
	1265	1275	1285	1295	1305	1315
O28	TGCCACTCAT	ACTTAGTAAA	ATCAGCACCC	AGCAATATGT	CTCGTGTATT	AAACGAATTA
O29	TGCCACTCAT	ACTTAGTAAA	ATCAGCACCC	AGCAATATGT	CTCGTGTATT	AAACGAATTA
O112	TGCCACTCAT	ACTTAGTAAA	ATCAGCACCC	AGCAATATGT	CTCGTGTATT	AAACGAATTA
O124	TGCCACTCAT	ACTTAGTAAA	ATCAGCACCC	AGCAATATGT	CTCGTGTATT	AAACGAATTA
O124:H30	TGCCACTCAT	ACTTAGTAAA	ATCAGCACCC	AGCAATATGT	CTCGTGTATT	AAACGAATTA
O136	TGCCACTCAT	ACTTAGTAAA	ATCAGCACCC	AGCAATATGT	CTCGTGTATT	AAACGAATTA
O143	TGCCACTCAT	ACTTAGTAAA	ATCAGCACCC	AGCAATATGT	CTCGTGTATT	AAACGAATTA
O144	TGCCACTCAT	ACTTAGTAAA	ATCAGCACCC	AGCAATATGT	CTCGTGTATT	AAACGAATTA
O152	TGCCACTCAT	ACTTAGTAAA	ATCAGCACCC	AGCAATATGT	CTCGTGTATT	AAACGAATTA
O164	TGCCACTCAT	ACTTAGTAAA	ATCAGCACCC	AGCAATATGT	CTCGTGTATT	AAACGAATTA
O167	TGCCACTCAT	ACTTAGTAAA	ATCAGCACCC	AGCAATATGT	CTCGTGTATT	AAACGAATTA
SHIGELLA 2	TGCCACTCAT	ACTTAGTAAA	ATCAGCACCC	AGCAATATGA	CTCGTGTATT	AAACGAATTA
SHIGELA 5A	TGCCACTCAT	ACTTAGTAAA	ATCAGCACCC	AGCAATATGA	CTCGTGTATT	AAACGAATTA
						
	1325	1335	1345	1355	1365	1375
O28	AAAACCGAAG	CAACAGATAA	AAAAGAAGAA	ATCATCGAAA	AATCAATAAA	AATTATTGAT
O29	AAAACCGAAG	CAACAGATAA	AAAAGAAGAA	ATCATCGAAA	AATCAATAAA	AATTATTGAT
O112	AAAACCGAAG	CAACAGATAA	AAAAGAAGAA	ATCATCGAAA	AATCAATAAA	AATTATTGAT
O124	AAAACCGAAG	CAACAGATAA	AAAAGAAGAA	ATCATCGAAA	AATCAATAAA	AATTATTGAT
O124:H30	AAAACCGAAG	CAACAGATAA	AAAAGAAGAA	ATCATCGAAA	AATCAATAAA	AATTATTGAT
O136	AAAACCGAAG	CAACAGATAA	AAAAGAAGAA	ATCATCGAAA	AATCAATAAA	AATTATTGAT
O143	AAAACCGAAG	CAACAGATAA	AAAAGAAGAA	ATCATCGAAA	AATCAATAAA	AATTATTGAT
O144	AAAACCGAAG	CAACAGATAA	AAAAGAAGAA	ATCATCGAAA	AATCAATAAA	AATTATTGAT
O152	AAAACCGAAG	CAACAGATAA	AAAAGAAGAA	ATCATCGAAA	AATCAATAAA	AATTATTGAT
O164	AAAACCGAAG	CAACAGATAA	AAAAGAAGAA	ATCATCGAAA	AATCAATAAA	AATTATTGAT
O167	AAAACCGAAG	CAACAGATAA	AAAAGAAGAA	ATCATCGAAA	AATCAATAAA	AATTATTGAT
SHIGELLA 2	AAAACCGAAG	CAACAGATAA	AAAAGAAGAA	ATCATCGAAA	AATCAATAAA	AATTATTGAT
SHIGELA 5A	AAAACCGAAG	CAACAGATAA	AAAAGAAGAA	ATCATCGAAA	AATCAATAAA	AATTATTGAT
						
	1385	1395	1405	1415	1425	1435
O28	TATTACAATT	CTCTTAAATC	GCCAGATCTT	GGAACCAAAC	TTTACATTCA	CGACTTATTA
O29	TATTACAATT	CTCTTAAATC	GCCAGATCTT	GGAACCAAAC	TTTACATTCA	CGACTTATTA
O112	TATTACAATT	CTCTTAAATC	GCCAGATCTT	GGAACCAAAC	TTTACATTCA	CGACTTATTA
O124	TATTACAATT	CTCTTAAATC	GCCAGATCTT	GGAACCAAAC	TTTACATTCA	CGACTTATTA
O124:H30	TATTACAATT	CTCTTAAATC	GCCAGATCTT	GGAACCAAAC	TTTACATTCA	CGACTTATTA
O136	TATTACAATT	CTCTTAAATC	GCCAGATCTT	GGAACCAAAC	TTTACATTCA	CGACTTATTA
O143	TATTACAATT	CTCTTAAATC	GCCAGATCTT	GGAACCAAAC	TTTACATTCA	CGACTTATTA
O144	TATTACAATT	CTCTTAAATC	GCCAGATCTT	GGAACCAAAC	TTTACATTCA	CGACTTATTA
O152	TATTACAATT	CTCTTAAATC	GCCAGATCTT	GGAACCAAAC	TTTACATTCA	CGACTTATTA
O164	TATTACAATT	CTCTTAAATC	GCCAGATCTT	GGAACCAAAC	TTTACATTCA	CGACTTATTA
O167	TATTACAATT	CTCTTAAATC	GCCAGATCTT	GGAACCAAAC	TTTACATTCA	CGACTTATTA
SHIGELLA 2	TATTACAATT	CTCTTAAATC	GCCAGATCTT	GGAACCAAAC	TTTACATTCA	CGACTTATTA
SHIGELA 5A	TATTACAATT	CTCTTAAATC	GCCAGATCTT	GGAACCAAAC	TTTACATTCA	CGACTTATTA
						
	1445	1455	1465	1475	1485	
O28	CAGGTCAATA	AGCTTTTATT	GAATAACTCT	CATTCTAATA	TATAG	
O29	CAGGTCAATA	AGCTTTTATT	GAATAACTCT	CATTCTAATA	TATAG	
O112	CAGGTCAATA	AGCTTTTATT	GAATAACTCT	CATTCTAATA	TATAG	
O124	CAGGTCAATA	AGCTTTTATT	GAATAACTCT	CATTCTAATA	TATAG	
O124:H30	CAGGTCAATA	AGCTTTTATT	GAATAACTCT	CATTCTAATA	TATAG	
O136	CAGGTCAATA	AGCTTTTATT	GAATAACTCT	CATTCTAATA	TATAG	
O143	CAGGTCAATA	AGCTTTTATT	GAATAACTCT	CATTCTAATA	TATAG	
O144	CAGGTCAATA	AGCTTTTATT	GAATAACTCT	CATTCTAATA	TATAG	
O152	CAGGTCAATA	AGCTTTTATT	GAATAACTCT	CATTCTAATA	TATAG	
O164	CAGGTCAATA	AGCTTTTATT	GAATAACTCT	CATTCTAATA	TATAG	
O167	CAGGTCAATA	AGCTTTTATT	GAATAACTCT	CATTCTAATA	TATAG	
SHIGELLA 2	CAGATCAATA	AGCTTTTATT	GAATAACTCT	CATTCTAATA	TATAG	
SHIGELA 5A	CAGATCAATA	AGCTTTTATT	GAATAACTCT	CATTCTAATA	TATAG	

ANEXO C - Significância das diferenças de disseminação, através da formação de placas de lise, entre os sorotipos de EIEC e M90T

	O28	O29	O112	O124	O124:H30	O136	O143	O144	O152	O164	O167
O28		***	ns	***	***	***	***	**	***	***	***
O29				***							
O112	ns	***		***	***	**	*	ns	***	***	***
O124											
O124:H30		***		***					***	ns	***
O136		***		***	**				***	***	***
O143		***		***	***	ns			***	***	***
O144		***		***	***	ns			***	***	***
O152		*		***							ns
O164		***		***					**		***
O167		ns		***							

Dado significativo: *, **, *** e ns (não significativo), (p < 0.05).