

РЕЗУЛЬТАТЫ ПРИМЕНЕНИЯ МЕТОДОВ АМПЛИФИКАЦИИ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ ДИАРОГЕННЫХ E. COLI

Коновалова Т.А., Бондарева А.В., Подколзин А.Т., Костенко Е.М., Хорошилова Т.В., Юдицкая Н.М.

ФГУН «Центральный НИИ эпидемиологии» Роспотребнадзора, Москва, Россия

Диагноз кишечного эшерихиоза является одним из наиболее распространенных в клинической практике. По данным официальной статистики в РФ количество случаев кишечного эшерихиоза среди ОКИ установленной этиологии уступает только количеству регистрируемых случаев сальмонеллеза. В то же время лабораторные критерии установления данного этиологического диагноза часто страдают недостаточной доказательностью. Основные трудности лабораторной диагностики кишечного эшерихиоза связаны с постоянным присутствием E coli в исследуемых образцах фекалий и необходимостью применения методов выявления диарогенных групп данных микроорганизмов. В роли подобных экспресс-критериев дифференцировки в бактериологической практике наиболее часто выступают гемолитическая активность изолята и отсутствие у него способности метаболизировать лактозу. Дальнейшее определение серологической характеристики штамма в РА служит основой для суждения о его принадлежности к той или иной группе диарогенных эшерихий. Недостатками данного «алгоритма» являются необъективность критериев отбора изолятов для углубленных исследований, высокая стоимость серологических тестов для проведения РА, их низкая эффективность и косвенный характер доказательств отнесения изолята к той или иной группе диарогенных E coli. В настоящее время выделяют 6 групп диарогенных эшерихий, дифференцируемых по наличию специфических факторов вирулентности, определяющих особенности патогенеза вызываемых ими форм заболеваний. **Целью** данной работы явилась разработка и оценка эффективности применения комплекта реагентов на основе ПЦР для выявления диарогенных E coli. В соответствии с поставленной целью решались следующие **задачи**: 1-Оценка распространенности различных групп диарогенных эшерихий среди детей, госпитализируемых с ОКИ в стационары г Москвы с применением комплекта реагентов для детекции генов, кодирующих ключевые факторы вирулентности диарогенных эшерихий, 2- Выделение клинических изолятов E coli, и их характеристика по критериям наличия гемолитической активности/лактозонегатив-

ности и генов факторов вирулентности, детерминирующим принадлежность к группам диарогенных *E coli*.

Материалы: Частота выявления различных групп диарогенных эшерихий в образцах клинического материала оценивалась при исследовании образцов фекалий от детей, госпитализированных в отделения кишечных инфекций стационара г Москвы. Изоляты *E coli*, для комплексной оценки их свойств были получены из образцов фекалий от данной группы детей и от взрослых пациентов, без признаков острых диарейных заболеваний.

Результаты:

В результате проведенной работы был разработан комплект реагентов для применения в формате RealTime/EndPoint PCR (Амплисенс Эшерихиозы-FL), позволяющий проводить детекцию пяти групп диарогенных эшерихий по следующим генам-мишеням: EPEC – eae «+», STX1/STX2 «-»; EAgEC – aggR «+»; EIEC – ipaH «+»; ETEC – LT «+»; EHEC – STX1/STX2 «+», eae «-/+».

Данные о распространенности различных групп диарогенных *E coli* среди госпитализированных детей с ОКИ представлены в таблице №1.

Таблица 1. Частота выявления различных групп диарогенных эшерихий у госпитализированных с ОКИ пациентов детского возраста.

	Группа исследования	
	(n=836)	%
EPEC	70	8.37
ETEC	5	0.60
EAgEC	37	4.42
EHEC	11	1.32

Результаты исследования, с применением разработанного теста, изолятов *E coli*, охарактеризованных по наличию гемолитической активности и способности утилизировать лактозу, представлены в таблице №2.

Закключение:

Наибольшую распространенность среди госпитализированных детей с ОКИ имеют энтеропатогенные (8,37%) и энтероагрегативные (4,42%) группы диарогенных эшерихий. Клиническая значимость их обнаружения у детей различных возрастных групп требует дальнейшего исследования. Наличие у изолята гемолитической активности / способности метаболизировать лактозу не может служить критерием селекции изолятов при проведении микробиологических исследований на диарогенные группы *E coli*.

Таблица 2. Наличие гемолитической активности и способности метаболизировать лактозу у изолятов, относимых к различным группам диарогенных *E coli*.

	Лактозопозитивные <i>E coli</i> , без гемолитической активности (n=41)	<i>E coli</i> , имеющие гемолитическую активность (n=27)	Лактозонегативные <i>E coli</i> (n=16)	Лактозонегативные <i>E coli</i> , имеющие гемолитическую активность (n=1)
ЕНЕС	0	0	0	0
ЕТЕС	0	0	0	0
ЕРЕС	7	1	0	0
ЕІЕС	4	1	4	0
ЕАgЕС	7	0	1	0
Недиарогенные изоляты <i>E coli</i> .	23	25	11	1

РАЗРАБОТКА И АПРОБАЦИЯ МЕТОДИКИ MLVA-АНАЛИЗА С ЦЕЛЬЮ СУБТИПИРОВАНИЯ ИЗОЛЯТОВ *S. ENTERITIDIS*

Кулешов К.В., Браславская С.И., Подколзин А.Т.

ФГУН «Центральный НИИ эпидемиологии» Роспотребнадзора, Москва, Россия

Введение. Сальмонеллез является одним из наиболее актуальных заболеваний, ведущим фактором передачи которого являются продукты питания. В частности, за последние 20 лет сельскохозяйственные птицы (куры) повсеместно, в т.ч. и в России являются основным источником возбудителя инфекции, а основным этиологическим агентом таких заболеваний является *Salmonella enterica subsp. enterica* серовара Enteritidis. По данным референс-центра по мониторингу за сальмонеллезами в 2008г. *S. Enteritidis* определяла 81% от всех случаев выделения сальмонелл от людей, 30,6% – из пищевых продуктов, 39,2% – находок из объектов окружающей среды и 38,6% находок сальмонелл у животных. При этом в значительной части вспышек заболевания из всех зарегистрированных *S. Enteritidis* является основным этиологическим агентом. Таким образом, сегодня становится актуальной разработка и внедрение в систему эпидемиологического надзора за сальмонеллезами методов молекулярно-генетического анализа с целью выявления изолятов специфических маркеров