МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ РАСШИРЯЮТ АНАЛИТИЧЕСКИЕ ВОЗМОЖНОСТИ СОВРЕМЕННОЙ БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКИ

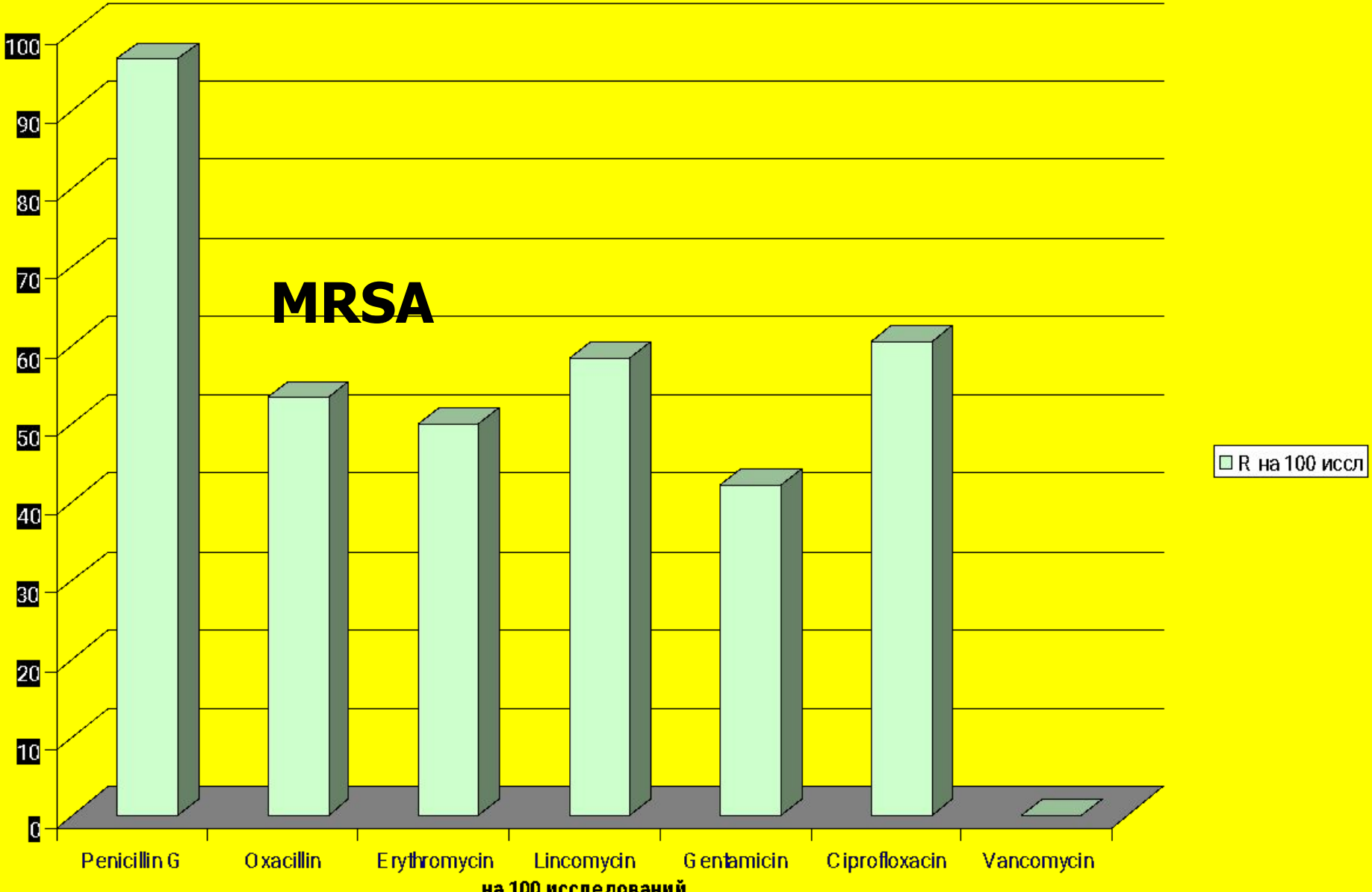
Л.А.Кафтырева,

ФБУН Санкт-Петербургский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера , 05.10.2011

ТЕСТЫ, ПОДТВЕРЖДАЮЩИЕ РЕЗИСТЕНТНОСТЬ

Фенотипические		Молекулярно-генетические	
Тесты	**Время**	**Гены**	**Время**
MRSA			
Латекс-тест для ПСБ 2а	**24 ч.**	**mecA**	**4 часа**
Агар с оксациллином	**24 ч.**		
VRE			
МИК ванкомицина **возможны ошибки идентификации**	**24 ч.**	**vanA, vanB, vanC, vanD**	**4 часа**
БЛРС и МБЛ			
Тесты синергизма	**24 ч.**	**CTX-M, SHV, TEM и др.**	**4 часа**
Тесты синергизма	**24 ч.**	**VIM, IMP и др.**	**4 часа**

Частота выделения резистентных к АМП S.aureus в ОРИТ многопрофильных стационаров (2008-2010 г.г.)



Бета-лактамазы клинических штаммов энтеробактерий

Вид м/о	Фенотип резистентности	Бета-лактамазы		% штаммов	Гено-типирование
		Тип	Группа		PFGE
E.coli n=40	ампициллин	ТЕМ	ТЕМ-1	41,7	8
	ЦСП 3- 4 пок.	БЛРС СТХ-М	СТХ-М-1	47,2	10
			СТХ-М-9	8,3	3
		БЛРС SHV	SHV	2,8	1
K.Pneumoniae n=50	ЦСП 3- 4 пок.	БЛРС СТХ-М	СТХ-М-1	100	17

Ванкомицинрезистентные энтерококки (ВРЭ)

- **В 2008-2010 гг. энтерококки входили в число десяти возбудителей, часто выделяемых от пациентов в С-Пб.;**

В 2009 гг. были подтверждены только 7 штаммов, как ВРЭ из 98, идентифицированных как ВРЭ.

Были выделены от пациентов ОРИТ из мочи;

Ванкомицин - устойчивость (МИК более 256 г/л)
Устойчивость к гликопептидам обусловлена геном ***van*A**;

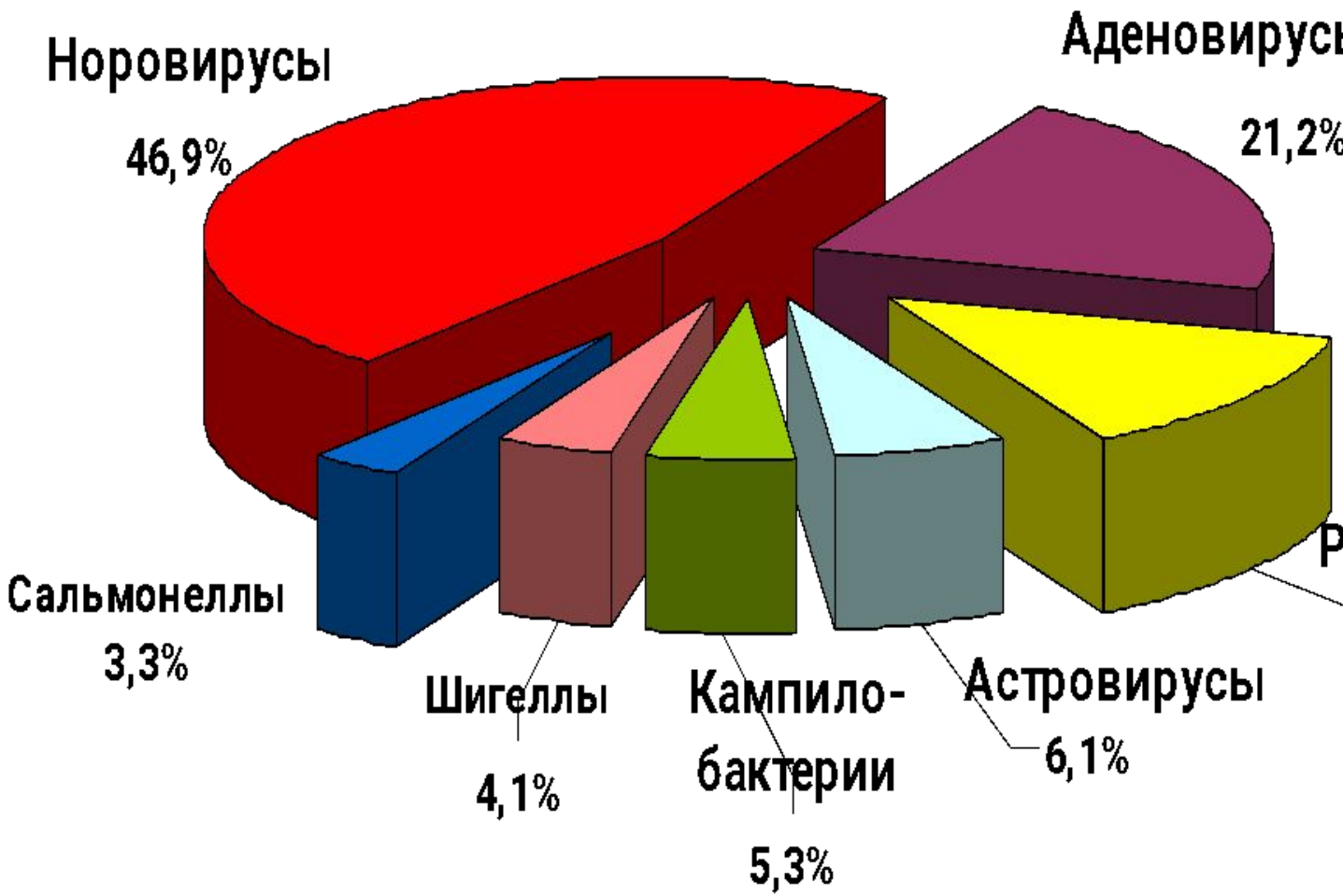
- Опыт по проведению скрининга ВРЭ в стационарах в повседневной работе бактериологических лабораторий показал необходимость использования **подтверждающих тестов (Е-тест и/или ПЦР**), поскольку использование ДДМ или автоматических анализаторов нередко выявляет «ложно» резистентные штаммы энтерококков
  - **(93% ложноположительные)**

Детекция патогенных микроорганизмов увеличилась в 12 раз !

Данные инфекционной больницы №30

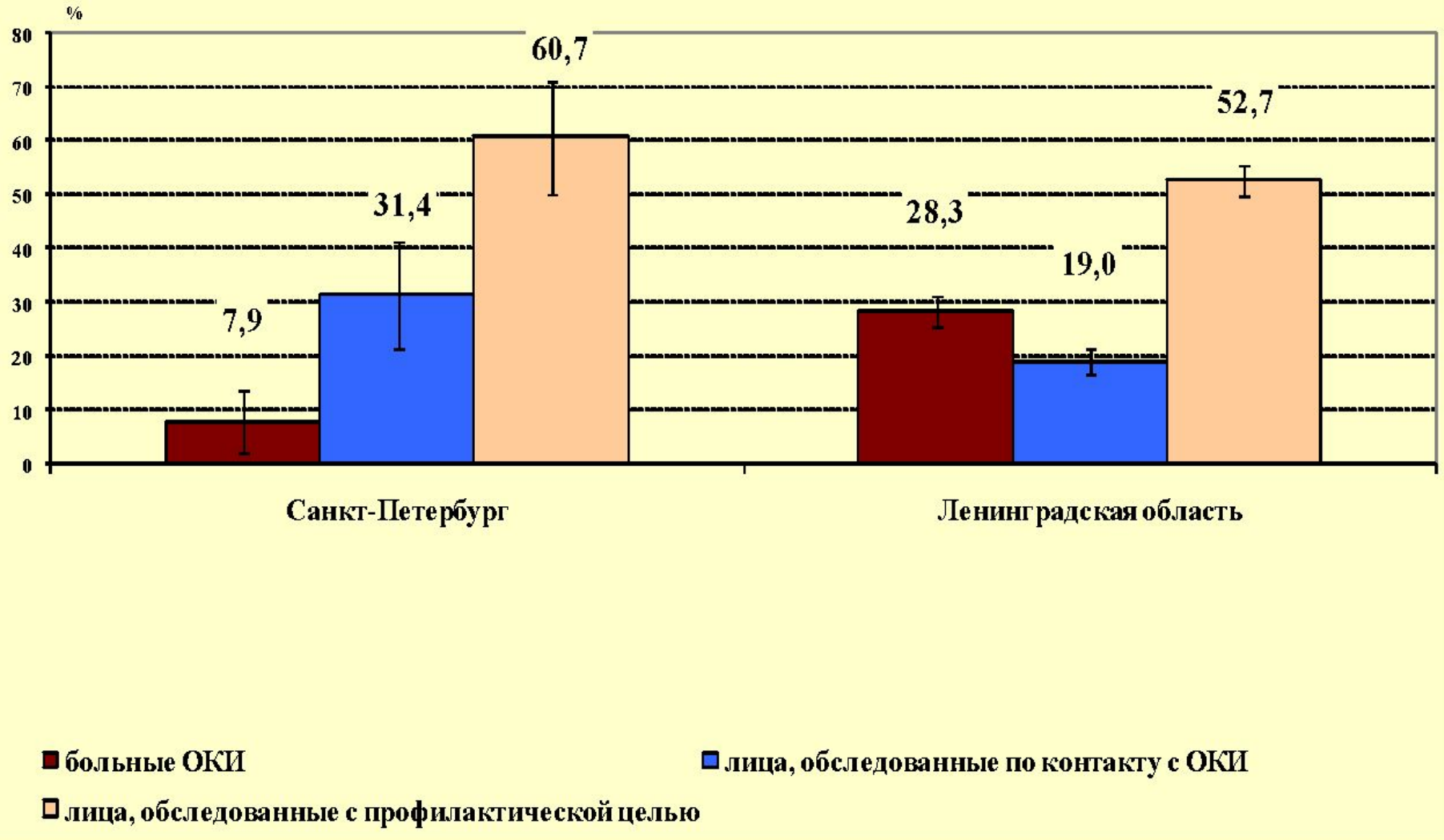
«Классическое» бактериологическое обследование	Современная диагностика ОКИ Молекулярно-генетические методы
4,6%	59%

СТРУКТУРА ОКИ, УСТАНОВЛЕННОЙ ЭТИОЛОГИИ (1-2 квартал 2010)



Преобладают вирусы - 87,3%

Распределение E. coli O1 по группам обследованных лиц (2005г.)



Детерминанты вирулентности штаммов E. coli O1

Адгезины	**P-пили (*pap*)**	**+**
	S-фимбрии (*sfa*)	-
	афимбриальные адгезины (*afa*)	-
	интимин (*eae*)	-
	аггрегативно-адгезивные фимбрии I (*aaf/I*)	-
Токсины	гемолизин *hly*	-
	цитонекротический фактор 1-2 *cnf* 1-2	-
	энтеротоксины LT и ST (*elt,LT-II, ST*-I –II)	-
	шига-подобный токсин I-II (*slt-I-II*)	-
Инвазины	гены инвазивности (*ipaH*, *ial*)	-
Факторы персистенции	**аэробактин (*aer*)**	**+**

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ В БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКЕ

- **Молекулярное серотипирование *E. coli O1***

- ***Антигенная формула O1:K1:H-***
- ***Факторы вирулентности***
- ***Pap ген (*Р-пили)**
- ***Aer ген (*фактор персистенции – аэробактин)**
- ***Относится к уропатогенным E. coli - возбудитель внекишечных эшерихиозов (заболеваний МВП)***

Характеристика возбудителя *E.coli* O104:H4

E.coli выделенные в Германии и Франции принадлежали к серогруппе O104 (серотип O104:H4) имели ген, кодирующий продукцию шига-токсина 2 (stx2), характерного для ЕНЕС.

В отличие от типичных ЕНЕС у них отсутствовали гены, ответственные за адгезию (eae и hlyA), эти свойства им обеспечивали гены, кодирующие факторы адгезии ***E.coli*** группы EAEC (гены aatA, aggR, aap, aggA и aggC).

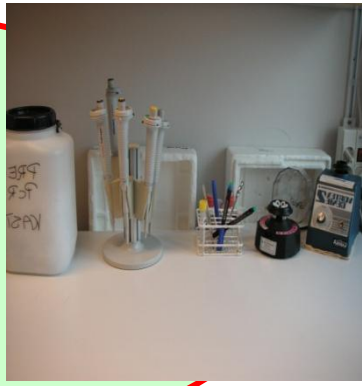
Результаты молекулярно-генетических исследований показали, что «вспышечный» штамм по происхождению относится к группе **энтероаггрегативных *E. coli* (EAEC) и получил способность продуцировать шига-токсин в результате интеграции бактериофага в бактериальный геном.**

Региональный микробиологический мониторинг

Научно-методический центр по молекулярной медицине

Координационно-методический СОВЕТ
городской отдел клинической эпидемиологии

Референс-лаборатория



Бак лаборатории стационаров и обслуживающие стационары

Бак лаборатории, обслуживающие родильные дома

Тестирование MRSA, VRE, штаммов возбудителей, выделенных от больных в период вспышек, проблемных микроорганизмов: Klebsiella spp., Pseudomonas spp. и др.

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ В БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКЕ

Заключение

Внедрение молекулярно-генетических методов детекции механизмов резистентности, факторов вирулентности микроорганизмов значительно расширили аналитические возможности работы бактериологических лабораторий стационаров и позволили получить достоверные результаты в более короткие сроки исследования.

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ РАСШИРЯЮТ АНАЛИТИЧЕСКИЕ ВОЗМОЖНОСТИ СОВРЕМЕННОЙ БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКИ

Л.А.Кафтырева, С.А.Егорова, М.А. Макарова

ФБУН Санкт-Петербургский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера

05.10.2011