

Заключительная лекция

Кафтырева Лидия Алексеевна

Проблема №1

Внедрение в работу лабораторий молекулярно-генетических методов

для детекции:

- **Патогрупп эшерихий**
- **Факторов вирулентности (эшерихий)**
- **Трудно культивируемых (кампилобактеров)**
- **Возбудителей вирусных диарей**
- **Механизмов резистентности к АМП**

Детекция патогенных микроорганизмов увеличилась в **12 раз** !

Данные инфекционной больницы №30, С-Пб

**«Классическое»
бактериологическое
обследование**

4,6%

**Современная
диагностика ОКИ
Молекулярно-генетические
методы**

59%

Escherichia coli

Группа эшерихий (международный центр по эшерихиям)	Инфекции
1. Диареегенные - Diarheagenic E coli	Кишечные инфекции
2. Внекишечные - Extraintestinal pathogenic E coli, в том числе:	Инфекции внекишечной локализации: (ГСИ, ИСМП)
□ Уропатогенные (Uropathogenic E coli)	менингит , сепсис, энцефалит, множественный неврит, пиелит, пиелонефрит, цистит, холецистит, перитонит, аппендицит, панкреатит,
□ - вызывающие МЕНИНГИТЫ новорожденных (Newborn meningitic E coli)	пневмония, бронхиальная астма, назофарингит, отит, конъюнктивит, офтальмит, тиреоидит, пиемические, септикопиемические и токсикосептические осложнения; выделяются при раневых, а также ожоговых заболеваниях, у
□ ассоциированные с СЕПСИСОМ (Septiceamia associated pathogenic E coli)	хирургических больных.

Содержат специфические факторы вирулентности !!!

Деление E coli, вызывающих ОКИ

1. Энтеропатогенные E coli (EPEC),
2. Энтеротоксигенные E coli (ETEC),
3. **Энтерогеморрагические E coli (EHEC),**
4. Энтероинвазивные E coli (EIEC),
5. Энтероаггегативные E coli (EAgEC),
6. Диффузно-адгерентные E coli (DAEC).

различаются по ключевым механизмам патогенеза и наличию специфических факторов вирулентности, делающих возможной их реализацию.

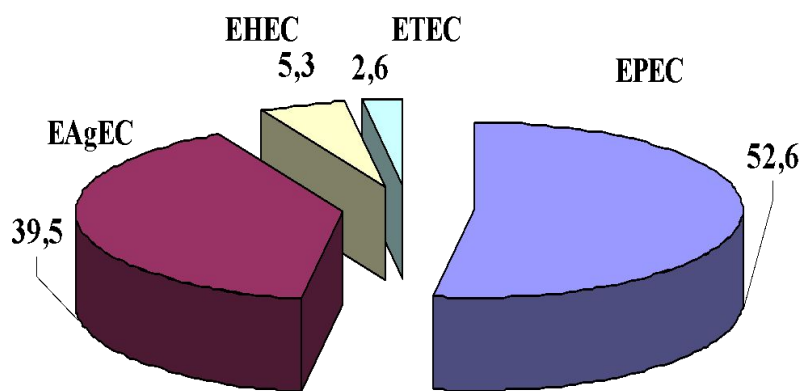
Выявление РНК и ДНК возбудителей ОКИ
в объектах окружающей среды и
клиническом материале методом ПЦР (Интерлабсервис)

Мульти-детекция:

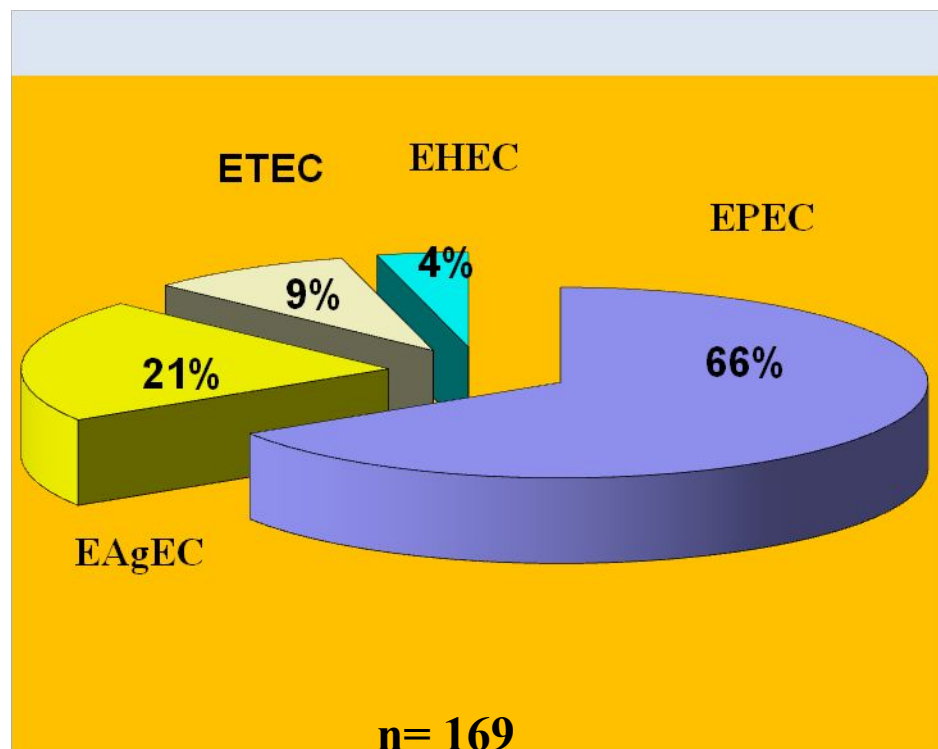
- АмплиСенс® Shigella Shigella и Shigella и EIEC/Salmonella /Campylobacter Shigella и EIEC/Salmonella /Campylobacter
– 4/5
- АмплиСенс® Rotavirus/Norovirus/Astrovirus-FL - ротавирусов группы А, норовирусов 2 генотипа - 3
- АмплиСенс® ОКИ скрин ОКИ скрин Shigella ОКИ скрин Shigella и ОКИ скрин Shigella и EIEC, ОКИ скрин Shigella и EIEC, ОКИ скрин Shigella и EIEC, Salmonella, ОКИ скрин Shigella и EIEC, Salmonella, Campylo ОКИ скрин Shigella и EIEC, Salmonella, Campylo- ОКИ скрин Shigella и EIEC, Salmonella, Campylo-bacter, Adenovirus ОКИ скрин Shigella и EIEC, Salmonella, Campylo-bacter, Adenovirus, ОКИ скрин Shigella и EIEC, Salmonella, Campylo-bacter, Adenovirus, Rotavirus ОКИ скрин Shigella и EIEC, Salmonella, Campylo-bacter, Adenovirus,

Структура эшерихиозов

МОСКВА



САНКТ-ПЕТЕРБУРГ



Инфекционные болезни 2013; том 11; №3
(Горелов А.В., Бондарева А.В., Подколзин А.Т.)

Инфекция и иммунитет, 2016; том 6; №3
(Соколова Е.Д., данные ДГБ №5,, 2012-2014;)

Проблема №2

- **Внедрение в работу лабораторий молекулярно-генетических методов для детекции «новых» важных бактериальных возбудителей ОКИ, способных к широкому эпидемическому распространению**

MALDI TOF

- **Масс спектрометрия для идентификации и таксономии**
- *E. coli* (лак-) сложно дифференцировать от *Shigella*, так как они относятся к одному геновиду,
- в комментариях предлагается поставить дополнительные фенотипические тесты



Проблема №3

**Внедрение в работу лабораторий
молекулярно-генетических методов :**

- для детекции факторов
вирулентности диареегенных
эшерихий**
- для определения серотипа т.н.
«Молекулярное серотипирование»**

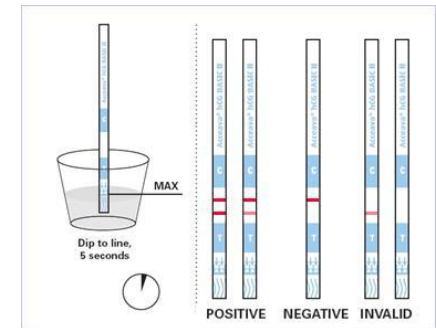
**Использование
молекулярно-биологических методов -
осознанная необходимость современной
лабораторной диагностики острых
кишечных инфекций**

Серологические методы выявления Stx 1/2 (иммунохроматографические тесты)

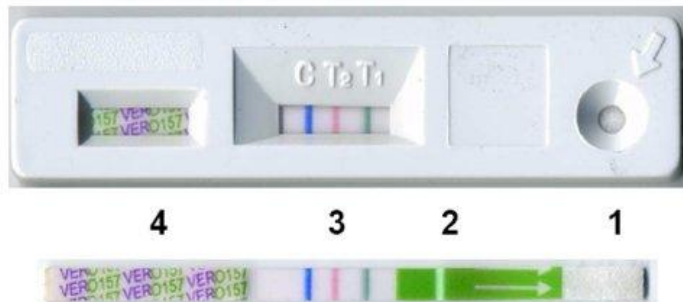
Duopath®
Verotoxins



BioStar OIA SHIGATOX
(США)



RIDA® QUICK Verotoxin / O157 Combi test



ImmunoCard STAT EHEC
(США)



Вспышка E.coli O104:H4 в 2011 г.

С 8 мая по 17 июля 2011 г. (70 дней) в двух европейских странах (**Германия и Франция**) были зарегистрированы вспышки ОКИ с пищевым путем передачи, обусловленные

E.coli O104:H4 (E.coli O104:K9:H4)

Эпидемиологически обе вспышки были связаны с одним и тем же фактором передачи – **пряно-ароматическим представителем семейства бобовых – «фенугреком (пожитником)»** (латинское название *Trigonella foenum-graecum*).

Вспышка *E.coli* O104:H4 в 2011 г.

- Аналогичные случаи ОКИ, нередко с развитием ГУС, кроме Германии и Франции, также отмечены в 14 странах Европы и Северной Америки: Австрия (5 случаев), Великобритания (7), Греция (1), Дания (25), Испания (2), Чехия (1), Люксембург (2), Нидерланды (11), Норвегия (1), Польша (3), Швейцария (5), Швеция (53), а также Канада (1) и США (6).
- Почти все заболевшие в мае-июне 2011 г. посещали северные районы Германии или имели контакты с лицами, вовлеченными в эту вспышку

E.Coli O104. Новая угроза

**Май 2011,
Германия,
E.coli O104:H4**



Фенугрик, пажитник

Фактор передачи: пажитник, фенугрик

- Является основной компонент смеси “карри”, входит в состав смесей «куркума», «хмели-сунели», «аджики», «кленового сиропа».
- В США им ароматизируют ром и кленовый напиток, добавляют в тесто.
- В Индии из обжаренных семян готовят суррогатный кофе.
- Из молодых растений готовят салат.

- Две группы имеют прямое отношение к ситуации, возникшей в Европе весной 2011 г.

Энтерогеморрагические E coli (EHEC),

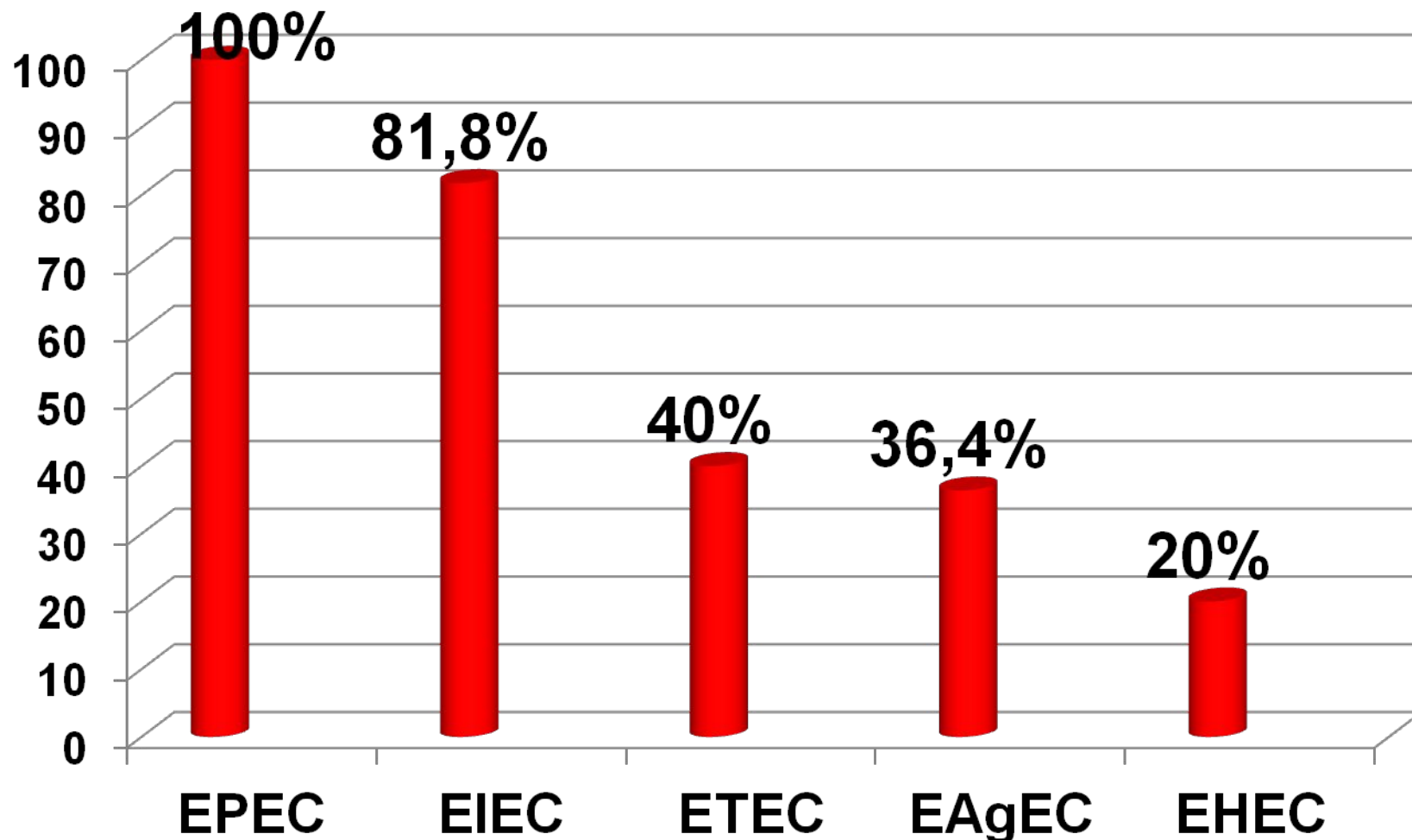
Энтероаггегативные E coli (EAgEC),

Его геном на 93 % идентичен геному штамма *E.coli* 55989, относящемуся к группе энтероаггегативных эшерихий (EAEC), возбудителей диареи у человека, выделенному в Центральной африканской республике.

Гемолитико-уремический синдром (HUS)

- Болезнь, представляющая угрозу для жизни.
- Характерны симптомы:
- Острая почечная недостаточность (уремия)
- Лабораторно отмечается:
- Гемолитическая анемия
- Низкое число тромбоцитов (тромбоцитопения)
- После ЭГКП-ОКИ – у 10% развивается ГУС; у 5% - летальность
- ГУС может приводить к неврологическим осложнениям (судороги, инсульт, кома) - у 25% пациентов с ГУС

ВОЗМОЖНОСТИ ИДЕНТИФИКАЦИИ СЕРОЛОГИЧЕСКИХ ГРУПП ДИАРЕЕГЕННЫХ E.coli



Серотипы энтерогеморрагических E.coli – EHEC,

O1:H-; **O1:H20**; O2:H-; O2:H5; O2:H7; O2:H29; O2:H39; O4:H-; O4:H10; O5:H-;
O5:H16; **O6:H1**; **O6:H3**; **O6:H34**; O7:H4; O8:H19; O15:H-; O15:H27; **O18:H-**;
O18:H7; **O18:H11**; **O18:H?**; O22:H8; O22:H16; O25:H-; **O26:H-**; **O26:H11**; **O26:H32**;
O38:H21; O39:H4; O40:H8; O43:H2; O45:H2; O46:H31; O46:H38; O46:H?;
O48:H21; O49:H-; O50:H7; O50:H-; O55:H7; O55:H10; O65:H16; O69:H11;
O74:H?; O76:H19; O76:H25; O76:H?; O80:H-; O82:H8; O84:H2; O84:H-; O84:H?;
O91:H-; O91:H10; O91:H14; O91:H21; O91:H7; O98:H25; O98:H-; O101:H19;
O103:H2; O103:H?; O103:H-; O111:H2; O111:H8; O111:H11; O111:H30; O111:H34;
O111:H-; O111:H?; 112ab:2; O113:H2; O113:H14; O113:H7; O113:H21; O113:H-;
O114:H48; **O115:H8**; **O115:H10**; **O115:H18**; O116:H21; O116:H-; O117:H4;
O118:H12; O118:H16; O118:H30; O118:H-; O121:H-; O121:H7; O121:H19;
O125:H-; O125:H8; O126:H-; O126:H8; O128:H2; O128:H8; O128:H12; O128:H25;
O128:H-; **O157:H-**; **O157:H7**; O163:H19; O165:H19; O165:H25; O165:H-;
O126:H8; O128:H2; O128:H8;

Доступных отечественных H-сывороток в РФ нет! Определяем только серогруппу

Esherichia coli O6

1. O6:K1

2. O6:K53:H1

3. O6:K2:H1

4. O6:K:H31

5. O6:K5:HNМ

6. O6:K5:H1

7. O6:K13:H1

8. O6:K54:H10

9. O6:K15:H31

10. O6:K2:H7

11. O6:K:H10

12. O6:K:H34

13. O6:K:H49

14. O6:K15:H16 - ETEC

15. O6:K:H- - EHEC

16. O6:K:H1 - EHEC

17. O6:K:H4 - EHEC

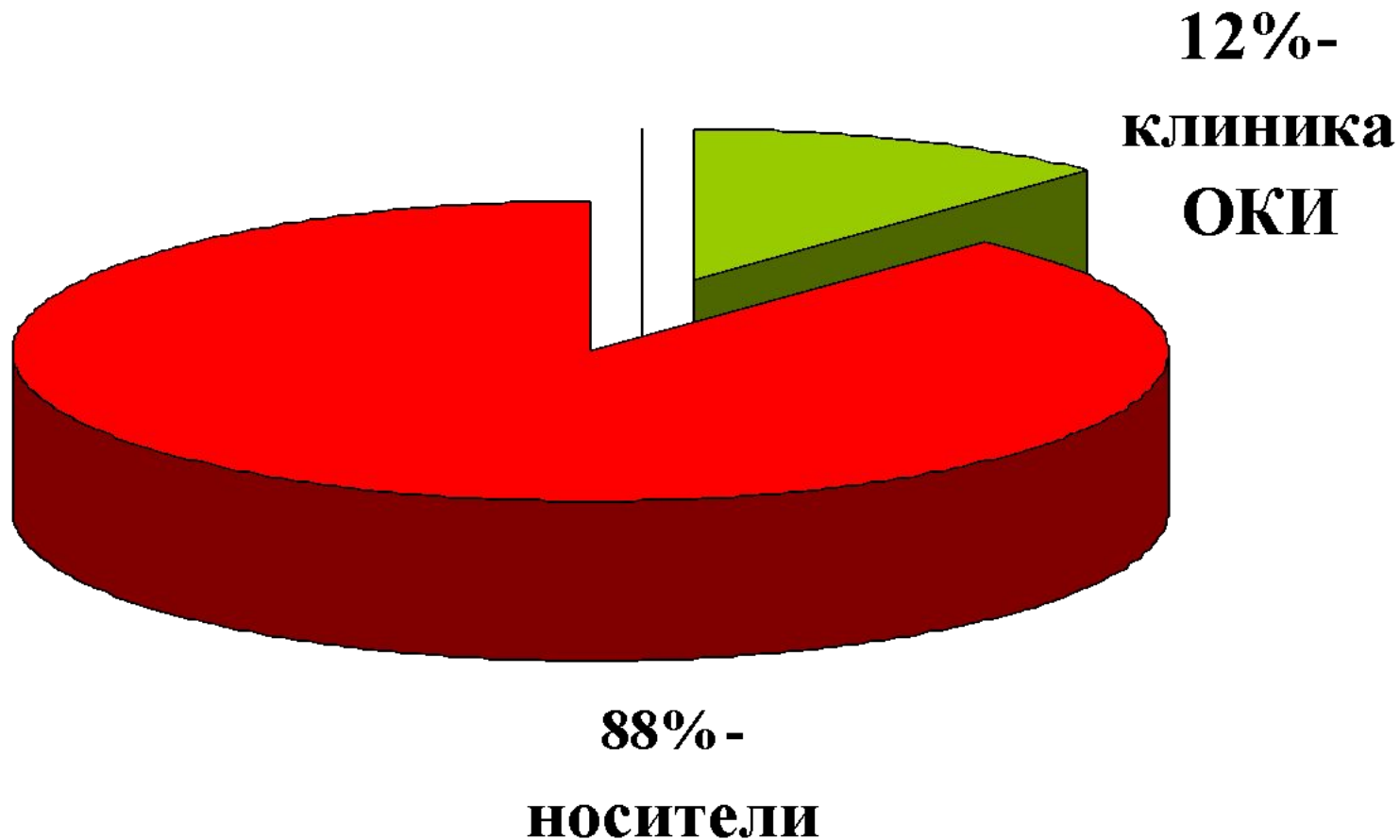
Одна из наиболее гетерогенных групп по набору К и Н антигенов (17 сероваров).

Из них к диареегенным относятся 4 (ЕТЕС-1; ЕНЕС-3) - красные;

3 серовара – комменсалы - синие;

10 сероваров —уропатогенные

Распределение штаммов E.coli O6 по источникам выделения (2009-2012)



Энтероаггегативные эшерии

- **Являются наименее изученными в мире**
- **Впервые выделены в 1985 г.**
- **Встречаются у больных ОКИ: 3,7-7,9%**
- **Встречаются у здоровых: 5,6-11,8%**
- Отличаются способностью прикрепляться (адгезироваться) к эпителию кишечника и соединяться между собой, формируя биопленку
- **Вызывают заболевания у лиц с ослабленным иммунитетом**

Клиника эшерихиоза, обусловленного EAgEC

- Острое начало – 53,3%
 - Повышение температуры – 60%; гипертермия – 33,3%
 - Рвота – 66,6%
 - Патологический стул – у всех заболевших;
 - Частота - $4 \pm 0,5$ раз/сутки; продолжительность – $2,8 \pm 0,7$ дней
 - Патологические примеси: слизь - 46,7%; кровь - 2,6%
 - Гепато -и спленомегалия – 23%
 - Среднетяжелая форма – 66,7%; легкая – 33,3%
 - Протекал по типу
 - Гастроэнтерита - 40%; Энтерита – 40%; ГЭК - 20%
 - **Осложнения со стороны МВП – 53,8%**
-
- Инфекционные болезни 2013; том 11; №3
 - Горелов А.В., Бондарева А.В., Подколзин А.Т.

Заключение

Комплексный подход с использованием фенотипических и молекулярных методов может существенно повысить уровень достоверности идентификации возбудителей ОКИ и эффективность выявления резистентности к АМП



Автоматизированная система ADAGIO

Автоматизированная система ADAGIO – это считывающее устройство, позволяющее получать и обрабатывать изображение диффузии в чашке Петри при помощи прикладного программного обеспечения для чтения антибиотикограмм



Эпидемиологический модуль

- Статистический анализ всех сведений, имеющихся в базе данных
- Широкие возможности эпидемиологического мониторинга
- Гибкая система построения запросов
 - микробный пейзаж (стационар, отделения, тип пробы)
 - период времени (день, неделя, месяц, квартал, год)
 - мониторинг чувствительности к антибиотикам (R I S)
 - фенотипы резистентности (ESBL, MRS, VRE и др)

Вспышки брюшного тифа

- **1999 г. Волгодонск** – сотни заболевших,
водный путь передачи
- **2005 г. Иркутск** – меньше 20 («СДГН»)
Путь передачи водный (локальный);
- **2006 г. С-Пб, военное училище** (более 300 чел)
Путь передачи - пищевой
- **2013 г. Пермь, рынок** (трудовые мигранты)
Путь передачи – классический водный
- **2013 г. Московская обл.** (общезитие »)
15 территорий: РФ (8), и страны НСГ
Путь передачи – пищевой + контактно - бытовой

-

S. enterica серовар *S. Typhi*

SALMONELLA serovar TYPHI



A B C D E F

- A) TSI: Alkaline slant / Acid Butt / Trace H₂S / No Gas (K / A^{TR})
- B) Urea: Negative
- C) LIA: Lysine Decarboxylase Positive
- D) Citrate: Negative
- E) MIO: Motile / Ornithine Negative
- F) MIO w/ indol reagent: Indol negative

- Сероводород ± «следы»
- Мочевина -
- Лизин +
- Цитрат Симмонса -
- Орнитин -
- Индол -
- Лактоза -
- Глюкоза +, газ -

Стандартизация мутности суспензии

Денси-Ла-Метр



Назначение: прибор для определения мутности бактериальной суспензии

Принцип метода: измерение оптической доли поглощенного света
Стандартизация оптической плотности при проведении идентификации бактерий и определения чувствительности к антибиотикам – один из основных критериев успешного проведения данных тестов.

Проблема №5

Отсутствие национальных референс лабораторий по детекции механизмов резистентности у клинически значимых штаммов микроорганизмов.

Проблема №6

Резистентность к антибиотикам

Методы определения

Оборудование для определения

Критерии оценки (S, I, R)

+79216529491 Лидия
Алексеевна Кафтырева

Лаборатория кишечных
инфекций С-Пб НИИ им.
Пастера

Спасибо за внимание!