

ПРИМЕНЕНИЕ КОМПЛЕКСНОГО ПЦР-ИССЛЕДОВАНИЯ КЛИНИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ОСТРЫХ КИШЕЧНЫХ ИНФЕКЦИЙ

*Орлова К.А., Мазепа В.Н., Перфилова Н.В., Шипулин Г.А.¹,
Волкова М.А.², Мезенцева С.В.³*

*Нижегородский НИИ эпидемиологии и микробиологии
им. академика И.Н. Блохиной,*

*1 – Центральный НИИ эпидемиологии МЗ РФ
Москва*

2 – Детская инфекционная больница №8,

*3 – Городская инфекционная больница №9
Н. Новгород*

Введение.

Согласно официальным данным службы Госсанэпиднадзора РФ, характерной особенностью этиологической структуры острых кишечных инфекций (ОКИ) в России в настоящее время является наличие до 80% заболеваний с неустановленным этиологическим агентом. Несовпадение методической лабораторной базы лечебно-профилактических учреждений приводит к тому, что диагностика ОКИ во многих случаях поздняя, а число диагностических ошибок достигает 12,2-14,7% и остается стабильным (1,2). Из всего спектра бактериальных возбудителей ОКИ лабораторные бактериологические исследования проводятся в основном на шигеллы, сальмонеллы и патогенные эшерихии. Значительно реже проводится выявление йерсиний и практически не выявляется кампилобактер в связи со сложностью культивирования и отсутствием отечественных питательных сред (3).

Целью.

настоящей работы являлось проведение комплексного ПЦР-исследования клинического материала от больных на наличие наиболее значимых бактериальных возбудителей диарейных заболеваний: бактерий рода *Shigella* и ЕІЕС, *Salmonella*, *Campylobacter* и *Yersinia enterocolytica*, сравнительная оценка эффективности бактериологического и молекулярно-генетического метода исследования при диагностике ОКИ.

Материалы и методы.

Для исследования использовались 153 пробы фекалий от детей в возрасте от 3 мес. до 14 лет с острыми кишечными заболеваниями спорадического характера, госпитализированных в Нижегородскую ГДИБ №8 в период с 01.02 по 31.05. 2004 года и 58 фекальных проб от взрослых пациентов городской инфекционной больницы №9, находившихся на стационарном лечении с 01.06. по 01. 08. 2004 г. Клинический материал параллельно и

одновременно исследовался методом ПЦР на наличие 4-х инфекционных агентов. В работе были использованы экспериментальные ПЦР тест-системы разработки и производства ЦНИИЭ МЗ РФ (Москва).

Выделение ДНК проводилось методом неферментативного лизиса гуанидинтиоцианатом с последующей сорбцией на силикагеле с использованием набора «ДНК-сорб-В» производства ЦНИИЭ Минздрава РФ.

Реакция амплификации проводилась в объеме 25 мкл на амплификаторе «Терцик МС2» фирмы «ДНК-технология» (Москва) в режиме, соответствующем инструкциям к тест-системам.

Продукты амплификации визуализировались методом электрофореза в 2% агарозном геле в присутствии бромида этидия.

Микробиологический анализ проб на сальмонеллы и шигеллы от этих же больных проводили специалисты бактериологических лабораторий ДИБ №8 и ГИБ №9 города Нижнего Новгорода по стандартной методике.

Результаты исследования.

Приведены в таблице 1. Методом ПЦР инфекционные агенты были обнаружены в 82 образцах клинического материала, что составило 40,7% от общего количества проанализированных проб. Наиболее часто этиологическими факторами являлись бактерии родов *Salmonella* и *Shigella*: в 58 (28,9%) и в 12 (6,0%) случаев соответственно. Бактерии рода *Campylobacter* были выявлены в 8 случаях (4,0%) и *Yersinia enterocolitica* в 4-х (2,0%). Бактериологическим методом этиологический фактор был выявлен в 38 пробах (18,9%), сальмонеллы идентифицировались в 34-х образцах (16,9%), шигеллы – в 4-х (2,0%). Во всех пробах, положительных в бактериологическом анализе, методом ПЦР также был выявлен аналогичный инфекционный агент.

Таблица 1.

Результаты комплексного ПЦР-исследования клинического материала на бактериальные возбудители ОКИ (n=201)

Микроорганизмы	Исследовано проб (абс.)	Выявлено возбудителей ОКИ			
		ПЦР		Бак. анализ	
		(абс.)	%	(абс.)	%
<i>Shigella</i>	201	12	6,0	4	2,0
<i>Salmonella</i>	201	58	28,9	34	16,9
<i>Campylobacter</i>	201	8	4,0	Не проводили-	Не проводили
<i>Yersinia</i>	201	4	2,0	Не проводили	Не проводили
Bcero	201	82	40,7	38	18,9

Выводы.

Проведенные исследования свидетельствуют о более высокой эффективности комплексной ПЦР-детекции бактериальных возбудителей ОКИ в клиническом материале по сравнению с микробиологическим методом. Методом ПЦР этиологический фактор установлен в 40,7% исследованных фекальных проб, при микробиологическом исследовании – в 18,9%. Статистическая обработка показала достоверность полученных результатов.

Таким образом, результаты исследования показали целесообразность проведения предварительного комплексного ПЦР-исследования клинического материала от больных на наличие наиболее распространенных бактериальных возбудителей ОКИ.

Литература

1. Покровский В.И., Онищенко Г.Г., Черкасский Б.Л. Инфекционные болезни в конце XX века и санитарно-эпидемиологическое благополучие в России в XXI веке // Журн. микробиол. – 2002. – №3. – С.16-23.
2. Ющук Н.Д., Бродов Л.Е. Острые инфекционные диарейные болезни // Мед. газета – 2000. – №31.
3. Черкасский Б.Л. Современные особенности эпидемиологии кишечных инфекций в Российской Федерации // Эпид. и инфек. бол. – 1997. – №5 – С.12-15.