

1. PI3K/AKT/mTOR signaling pathway in breast cancer: from molecular landscape to clinical aspects / D. Miricescu, A. Totan, II Stanescu-Spinu [et al.] // International journal of molecular sciences. – 2020. – Т. 22. – №. 1. – С. 173-194.
2. mTOR signaling pathway and mTOR inhibitors in cancer: progress and challenges / Z. Zou, T. Tao, H. Li [et al.] // Cell & bioscience. – 2020. – Т. 10. – №. 1. – С. 31-42.
3. Adeola F. Normalization of gene expression by quantitative RT-PCR in human cell line: comparison of 12 endogenous reference genes / F. Adeola // Ethiopian journal of health sciences. – 2018. – Т. 28. – № 6. – P. 741-748.
4. Valid gene expression normalization by RT-qPCR in studies on hPDL fibroblasts with focus on orthodontic tooth movement and periodontitis / C. Kirschneck, S. Batschkus, P. Proff [et al.] // Scientific reports. – 2017. – Т. 7. – №. 1. – С. 1-13.
5. HRT Atlas v1.0 database: redefining human and mouse housekeeping genes and candidate reference transcripts by mining massive RNA-seq datasets / B.W. Hounkpe, F. Chenou, F. de Lima [et al.] // Nucleic acids research. – 2021. – Т. 49. – №. D1. – С. 947-955.
6. Targeting the deregulated spliceosome core machinery in cancer cells triggers mTOR blockade and autophagy / V. Quidville, S. Alsafadi, A. Goubar [et al.] // Cancer research. – 2013. – Т. 73. – №. 7. – С. 2247-2258.
7. Design of primers and probes for quantitative real-time PCR methods / V Quidville, S Alsafadi, A Goubar [et al.] // PCR primer design. – 2015. – С. 31-56.

Сведения об авторах

Д.О. Корнилов* – лаборант-исследователь
 В.М. Симарзина – лаборант-исследователь
 М.А. Тряпицын – лаборант-исследователь
 Г.П. Маслаков – инженер-исследователь
 А.А. Бехтер – студент
 Д.Л. Зорников – кандидат медицинских наук, доцент

Information about the authors

D.O. Kornilov – Assay Assistant of Laboratory
 V.M. Simarzina – Assay Assistant of Laboratory
 M.A. Tryapitsyn – Assay Assistant of Laboratory
 G.P. Maslakov – Assay Assistant of Department
 A.A. Behter – Student of pediatrics
 D.L. Zornikov – Candidate of Science (Medicine), Associate Professor

*Автор, ответственный за переписку (Corresponding author):
 danilovkornil@gmail.com

УДК: 616-093/-098

СРАВНЕНИЕ ВОЗМОЖНОСТЕЙ КУЛЬТУРАЛЬНОГО МЕТОДА И ПЦР-РВ В РЕАЛЬНОМ ВРЕМЕНИ ДЛЯ КОЛИЧЕСТВЕННОЙ ОЦЕНКИ ЭНТЕРОБАКТЕРИЙ И СТАФИЛОКОККОВ В ОБРАЗЦАХ ФЕКАЛИЙ ДЕТЕЙ

Корнишева Анна Владимировна¹, Кейних Андрей Евгеньевич², Корнилов Даниил Олегович², Тряпицын Михаил Андреевич², Симарзина Вероника Михайловна², Аминева Полина Геннадьевна^{1,5}, Итани Тарек Мохамедович³, Зорников Данила Леонидович^{1,2}, Ворошилина Екатерина Сергеевна^{1,4}

¹Кафедра медицинской микробиологии и клинической лабораторной диагностики

²Лаборатория генетических и эпигенетических основ прогнозирования нарушений онтогенеза и старения человека

ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России

³Лаборатория энтеральных вирусных инфекций

ФБУН ФНИИВИ «Виром» Роспотребнадзора

⁴Медицинский центр «Гармония»

⁵Медицинский центр «Кволити Мед»

Екатеринбург, Россия

Аннотация

Введение. Энтеробактерии и стафилококки являются самыми распространенными условно-патогенными микроорганизмами (УПМ) кишечника. Идентификацию данных УПМ в фекалиях детей, как правило, проводят в рамках культурального исследования на дисбактериоз кишечника. На сегодняшний день в качестве альтернативы культуральному исследованию для этих целей может использоваться полимеразная цепная реакция (ПЦР), что требует исследования диагностической ценности этого метода. **Цель исследования** – провести сравнительный анализ культурального исследования и ПЦР-РВ в реальном времени для количественной оценки энтеробактерий и стафилококков в микробиоме кишечника детей. **Материал и методы.** 202 образца фекалий детей в возрасте от 0 до 14 лет, направленных для исследования на дисбактериоз кишечника в три разные лаборатории, были одновременно исследованы культуральным методом и методом ПЦР-РВ в

реальном времени. При культуральном исследовании энтеробактерии выделяли на агаре Эндо или агаре МакКонки, стафилококки - на желточно-солевом или маннит-солевом агаре. Идентификацию выросших колоний производили методом MALDI-TOF масс-спектрометрии. ПЦР-РВ проводили с использованием набора реагентов «Энтерофлор Дети» и амплификаторов DTprime-5 («ДНК-Технология», Россия). **Результаты.** Культуральным методом обнаруживали патогенные энтеробактерии в 1% проб, условно-патогенные энтеробактерии в 29,7%, *Escherichia coli* в 90,1%, *Staphylococcus aureus* в 34,2%, коагулазонегативные стафилококки в 6,9%. Методом ПЦР-РВ выявляли бактерии порядка *Enterobacterales* в 99% проб, патогенные/условно-патогенные энтеробактерии в 22,8%, *E. coli* в 86,6%, *Staphylococcus spp.* в 82,7%, *S. aureus* в 51,5%. Сопоставимость результатов культурального исследования и метода ПЦР-РВ отмечали для 78,8-90,2% проб при исследовании на наличие *E. coli* и для 63,5-70,7% проб при исследовании на наличие *S. aureus* в зависимости от лаборатории. Метод ПЦР-РВ не обнаруживал условно-патогенные бактерии в 47,8-69,2% положительных в посеве проб, тогда как культуральный метод не обнаружил данных микроорганизмов в 25-54,5% ПЦР-положительных проб.

Выводы. Прямое сравнение результатов культурального метода и ПЦР-РВ с использованием набора реагентов Энтерофлор Дети невозможно и нецелесообразно в силу разницы между фено- и генотипической идентификацией микроорганизмов, разной аналитической чувствительностью методик и особенностей компоновки ПЦР-РВ теста. Определение энтеробактерий и стафилококков в рамках комплексной оценки микробиоты кишечника целесообразно проводить с использованием ПЦР-РВ, тогда как при подозрении на инфекцию желудочно-кишечного тракта предпочтителен культуральный метод.

Ключевые слова: культуральный метод, полимеразная цепная реакция, энтеробактерии, стафилококки

THE COMPARISON OF CULTURE-BASED TECHNIQUE AND REAL-TIME PCR FOR QUANTIFICATION OF ENTEROBACTERIA AND STAPHYLOCOCCI IN FECAL SAMPLES FROM CHILDREN

Kornisheva Anna Vladimirovna¹, Keinikh Andrew Evgenievich², Kornilov Daniil Olegovich², Tryapitsyn Mikhail Andreevich², Simarzina Veronika Mikhailovna², Amineva Polina Gennadievna^{1,5}, Itani Tarek Mohamedovich³, Zornikov Danila Leonidovich^{1,2}, Voroshilina Ekaterina Sergeevna^{1,4}

¹Department of Medical Microbiology and Clinical Laboratory Diagnostics,

²Laboratory of Genetic and Epigenetic Basis of the Human Ontogenesis Abnormalities and Human Senescence

Ural State Medical University

³Laboratory of Enteric Viral Infections

Research Institute of Viral Infections, SRC VB VECTOR, Rospotrebnadzor

⁴Medical center "Garmonia"

⁵Medical center "Quality Med"

Yekaterinburg, Russia

Abstract

Introduction. Enterobacteria and staphylococci are the most common opportunistic bacteria in the intestine. They are usually identified in feces during the culture-based test for gut dysbiosis. Nowadays, polymerase chain reaction (PCR) may be used as an alternative to cultural methods for the purpose. However, the diagnostic value of PCR in gut microbiota analysis remains to be investigated. **The aim of this study** was to compare the culture-based method and PCR for quantification of enterobacteria and staphylococci in children's gut microbiome. **Material and methods.** There were 202 fecal samples from children aged 0-14 who submitted the feces for gut microbiota investigation in three different labs. The samples were tested for enterobacteria and staphylococci by both culture-based technique and real-time PCR. Enterobacteria were isolated on Endo agar or MacConkey agar, staphylococci were isolated on salt egg yolk agar or mannitol salt agar. The isolated colonies were identified by MALDI-TOF mass spectrometry. Real-time PCR was performed by the Adroflor kit (DNA-technology, Russia). **Results.** Culture-based method identified pathogenic enterobacteria in 1% of samples, opportunistic enterobacteria in 29.7%, *Escherichia coli* in 90.1%, *Staphylococcus aureus* in 34.2%, coagulase-negative staphylococci in 6.9% of samples. PCR detected bacteria belonging to the order *Enterobacterales* in 99% of samples, pathogenic/opportunistic enterobacteria in 22.8%, *E. coli* - in 86.6%, *Staphylococcus spp.* - in 82.7%, *S. aureus* - in 51.5% of samples. The plate and PCR results matched for 78.8-90.2% of samples for *E. coli* and in 63.5-70.7% of samples for *S. aureus* depending on the laboratory. PCR was not able to detect pathogenic/opportunistic enterobacteria in 47.8-69.2% of samples tested positive by cultural method, while culture-based method failed to identify any of them in 25-54.5% of samples tested positive by PCR. **Conclusion.** The direct comparison of culture-based method and real-time PCR ("Enteroflor Kids" kit) is impossible and unreasonable due to difference between phenotypic and genotypic bacterial identification, different analytical sensitivity of the methods and the particular PCR kit design. The PCR test is more suitable for enterobacteria and staphylococci evaluation during complex microbiota assessment, whereas the culture-based method is preferable if the GI tract infection is suspected.

Keywords: culture-based method, real-time PCR, enterobacteria, staphylococci.

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время отмечается рост числа заболеваний, вызванных условно-патогенными микроорганизмами (УПМ) - микроорганизмами (МО), которые являются нормальными обитателями желудочно-кишечного тракта, но при определенных условиях способны вызвать патологический процесс. Одними из наиболее значимых УПМ кишечника являются энтеробактерии (бактерии родов *Klebsiella*, *Proteus*, *Enterobacter*, *Citrobacter* и др.) и золотистый стафилококк (*Staphylococcus aureus*). Появление УПМ при нормальном или сниженном количестве облигатных представителей микробиоценоза (бифидобактерий и/или лактобацилл) является одним из ключевых критериев дисбактериоза кишечника [1].

В отечественной практике золотым стандартом для диагностики дисбактериоза является культуральное (бактериологическое) исследование кала [1, 2]; этому, в том числе способствует тот факт, что упомянутые выше представители УПМ относятся к числу легко культивируемых МО. Однако, несмотря на свою доступность и широкую распространенность, данный метод имеет значительное количество ограничений и недостатков, в связи с чем возникает необходимость в создании стандартизированного метода лабораторной диагностики дисбактериоза, который обладал бы достаточной диагностической ценностью и возможностью широкого внедрения в рутинную клиническую практику. В последние годы в качестве такого метода предлагается метод полимеразной цепной реакции в реальном времени (ПЦР-РВ), который является качественно новым перспективным направлением в диагностике дисбиотических состояний кишечника. Тем не менее, возможности метода ПЦР-РВ в рамках диагностики кишечного дисбактериоза, включая выявление и количественную оценку энтеробактерий и стафилококков, на сегодняшний день до конца не ясны.

Цель исследования – провести сравнительный анализ культурального исследования и ПЦР-РВ в реальном времени для количественной оценки энтеробактерий и стафилококков в микробиоме кишечника детей.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Были проанализированы 202 образца фекалий детей в возрасте от 0 до 14 лет, сдававших анализ на дисбактериоз кишечника в лаборатории Кволити Мед (г. Екатеринбург), ООО Ситилаб (г. Москва) и ООО Хеликс (г. Москва). Лаборатории были закодированы как Л1 (52 образца), Л2 (92 образцов), Л3 (58 образцов). Дополнительно к культуральному исследованию кишечная микробиота была исследована методом ПЦР-РВ в ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. акад. В.И. Кулакова» МЗ РФ (г. Москва), лабораторном отделении Медицинского центра «Гармония» (г. Екатеринбург) и в ООО Ситилаб (г. Москва).

При культуральном исследовании для выделения энтеробактерий использовали агар Эндо или агар МакКонки, для стафилококков – желточно-солевой или маннит-солевой агар. Процедуры разведения биоматериала и посева на питательные среды проводили в соответствии с внутренними регламентами лабораторий; полученные титры представлены в колониеобразующих единицах на 1 грамм фекалий (КОЕ/г). Идентификацию выросших колоний производили методом MALDI-TOF масс-спектрометрии (время-пролетная матрично-ассоциированная лазерная десорбционная ионизационная масс-спектрометрия). Аналитическая чувствительность (АЧ) культурального метода вне зависимости от лаборатории составила 1 КОЕ/г для патогенных энтеробактерий и *S. aureus*, 10^4 КОЕ/г – для лактозонегативных и гемолитических *Escherichia coli*. АЧ для типичных энтеробактерий - 10^4 КОЕ/г в Л1 и Л2, 10^4 КОЕ/г в Л3. АЧ для условно-патогенных энтеробактерий и коагулазонегативных стафилококков - 10^4 КОЕ/г в Л1, 10^2 КОЕ/г в Л2 и Л3.

Выделение ДНК из исследуемого материала проводили с использованием набора реагентов Проба НК-Плюс (ООО «ДНК-Технология») после предварительной обработки лизоцимом (Проба-Л, ООО «ДНК-Технология») в соответствии с инструкцией производителя. ПЦР-РВ проводили с использованием набора реагентов Энтерофлор Дети и амплификаторов ДТпрайм (ООО «ДНК-Технология») в соответствии с инструкцией производителя.

Количества МО и отдельных микробных маркеров представлены в геном-эквивалентах на 1 грамм фекалий (ГЭ/г). АЧ метода ПЦР-РВ для всех групп МО составляла 10⁴ ГЭ/г.

Статистическую обработку и визуализацию данных проводили с помощью R версии 4.3.2 (сборка 2023-10-31).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Как культуральное исследование, так и ПЦР-РВ позволяют выявлять *S. aureus* и *E. coli*. Дополнительно к этому культуральное исследование выявляет наличие коагулазонегативных стафилококков, патогенных и условно-патогенных энтеробактерий. Метод ПЦР-РВ в дополнении к *S. aureus* обнаруживает бактерии рода *Staphylococcus*, а в дополнении к *E. coli* – бактерии порядка *Enterobacteriales*. Прямое выявление патогенных/условно-патогенных энтеробактерий с помощью данного теста не предусмотрено, их наличие определяется как разница между количеством бактерий порядка *Enterobacteriales* и *E. coli*.

Бактерии порядка *Enterobacteriales* методом ПЦР-РВ выявляли в 200 (99%) из 202 образцов. *E. coli* была обнаружена в 175 (86,6%) пробах. При этом в 46 (22,8%) случаях ПЦР-РВ обнаруживал наличие энтеробактерий, не относящихся к виду *E. coli* (таблица 1). Культуральным методом представители порядка *Enterobacteriales* были выявлены в 192 (95%) проб, в том числе в 2 (1%) пробах были обнаружены облигатные патогены (*Salmonella Enteritidis*) и *Salmonella Manhattan*), в 60 (29,7%) пробах условно-патогенные энтеробактерии. *E. coli* была обнаружена культуральным методом в 182 (90,1%), в том числе были дифференцированы три фенотипа *E. coli*: типичные, лактозонегативные и гемолитические, которые выявили в 161 (79,7%), 40 (19,8%) и 9 (4,5%) образцов соответственно.

Staphylococcus spp. методом ПЦР-РВ обнаруживали в 167 (82,7%) из 202 образцов, в том числе *S. aureus* в 104 (51,5%) пробах. При культуральном исследовании коагулазонегативные стафилококки обнаружили в 14 (6,9%) пробах, а *S. aureus* – в 69 (34,2%) образцах.

Таблица 1.

Частота выявления целевых групп микроорганизмов культуральным методом и методом ПЦР-РВ (n=202)

Микроорганизм	«Посев+»	«ПЦР-РВ+»
Энтеробактерии		
<i>Enterobacteriales</i>	195 (95%)	200 (99%)
<i>E. coli</i>	182 (90.1%)	175 (86,6%)
<i>E. coli</i> (типичная)	161 (79,7%)	-
<i>E. coli</i> (лактозонегативная)	40 (19,8%)	-
<i>E. coli</i> (гемолитическая)	9 (4,5%)	-
Другие <i>Enterobacteriales</i> (не <i>E.coli</i>)	61 (30.2%)	46 (22,8%)*
Патогенные энтеробактерии	2 (1%)	-
Условно-патогенные энтеробактерии	60 (29,7%)	-
Стафилококки		
<i>Staphylococcus spp.</i>	-	167 (82,7%)
<i>Staphylococcus aureus</i>	69 (34,2%)	104 (51.5%)
Коагулазонегативные стафилококки	14 (6,9%)	-

Примечание:* – не является истинным показателем в ПЦР-РВ (рассчитывается как разница между *Enterobacteriales* и *E. coli*, может быть положительным в случае присутствия патогенных или условно-патогенных энтеробактерий в количестве, превышающем количество *E. coli*)

В зависимости от результатов культурального исследования и ПЦР-РВ все пробы поделили на 4 категории: «посев+пцр+» – целевые бактерии обнаружены обоими методами, «посев+пцр-» – целевые бактерии выявлены только в культуральном исследовании, «посев-пцр+» – целевые бактерии обнаружены только методом ПЦР, «посев-пцр-» – целевые бактерии не обнаружены ни одним из методов. Результат двух методов считали конкордантным, если проба попадала в категорию «посев+пцр+» или «посев-пцр-», в противном случае результат считали дискордантным. Анализ сходимости результатов проводили отдельно по каждой из трех лабораторий.

Результаты двух методов совпадали при выявлении *E. coli* для 78,8%, 90,2%, и 84,5% проб в Л1, Л2 и Л3, соответственно (рис. 1). Дискордантные результаты были представлены двумя категориями проб: «посев+пцр-» (5,8%, 9,8% и 10,3% проб в Л1, Л2 и Л3, соответственно) и «посев-пцр+» (15,4%, 0% и 5,2% в Л1, Л2 и Л3 соответственно).

При выявлении *S. aureus* результаты двух методов совпали для 63,5%, 64,1% и 70,7% проб Л1, Л2 и Л3 соответственно. Дискордантные результаты были также представлены вариантами «посев+пцр-» и «посев-пцр+». Доля проб категории «посев+пцр-» составила 1,9%, 12,0% и 8,6% от всех тестируемых образцов, категории «посев-пцр+» – 34,6%, 23,9% и 20,7% в Л1, Л2 и Л3 соответственно.

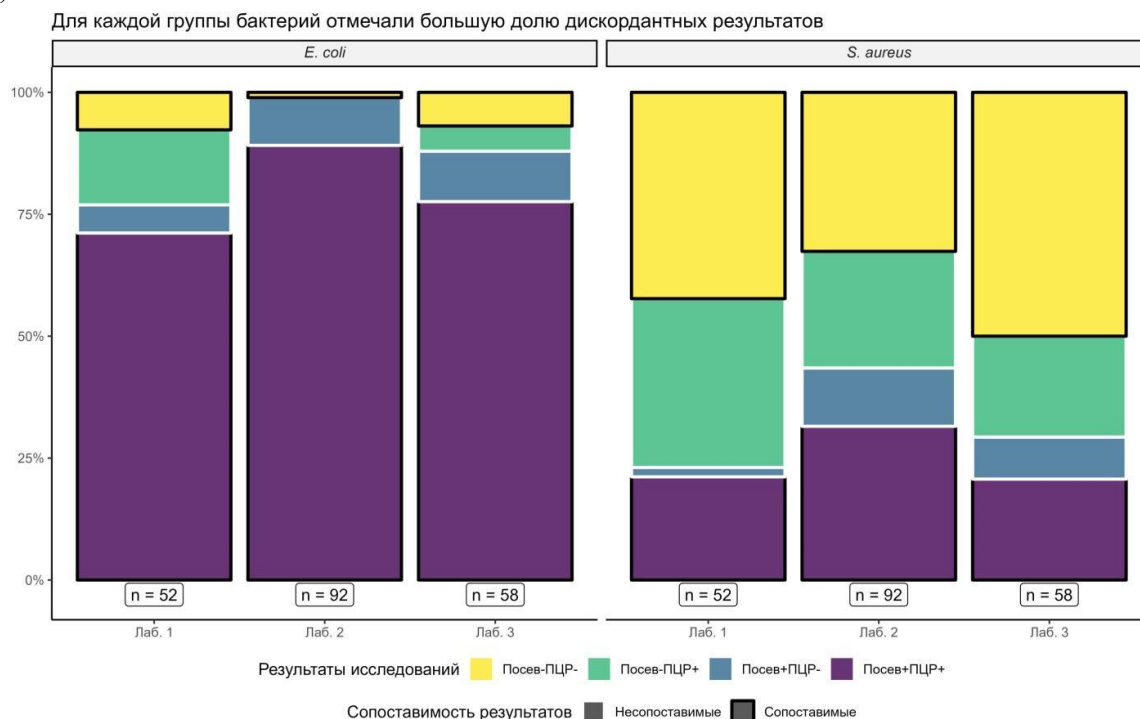


Рис. 1. Результаты культурального исследования и ПЦР-РВ для *E.coli* и *S.aureus* в трех лабораториях

В большинстве дискордантных проб категории «посев+пцр-» были выявлены положительные сигналы на таксоны более высокого ранга в ПЦР: порядка *Enterobacteriales* для *E. coli* и рода *Staphylococcus* для *S. aureus*. В 17 (94,4%) из 18 проб «посев+пцр-» на *E. coli* методом ПЦР-РВ были обнаружены бактерии порядка *Enterobacteriales*. В 13 (76,5%) из 17 проб «посев+пцр-» на *S. aureus* методом ПЦР-РВ были обнаружены бактерии рода *Staphylococcus*.

Заключение о возможном присутствии патогенных и условно-патогенных энтеробактерий по результатам ПЦР-РВ было получено в 46 пробах, в том числе для 2 образцов, в которых обнаружили облигатные патогены (*S. Enteritidis* и *S. Manhattan*) при культуральном исследовании. Условно-патогенные энтеробактерии были выявлены культуральным методом в 25 (54,3%) из 46 проб (рис 2, левая панель).

Условно-патогенные энтеробактерии культуральным методом были обнаружены в 60 пробах, при этом заключение о возможном присутствии данной группы бактерий по результатам ПЦР-РВ было вынесено только в 25 (41,7%) случаев (рис. 2, правая панель).

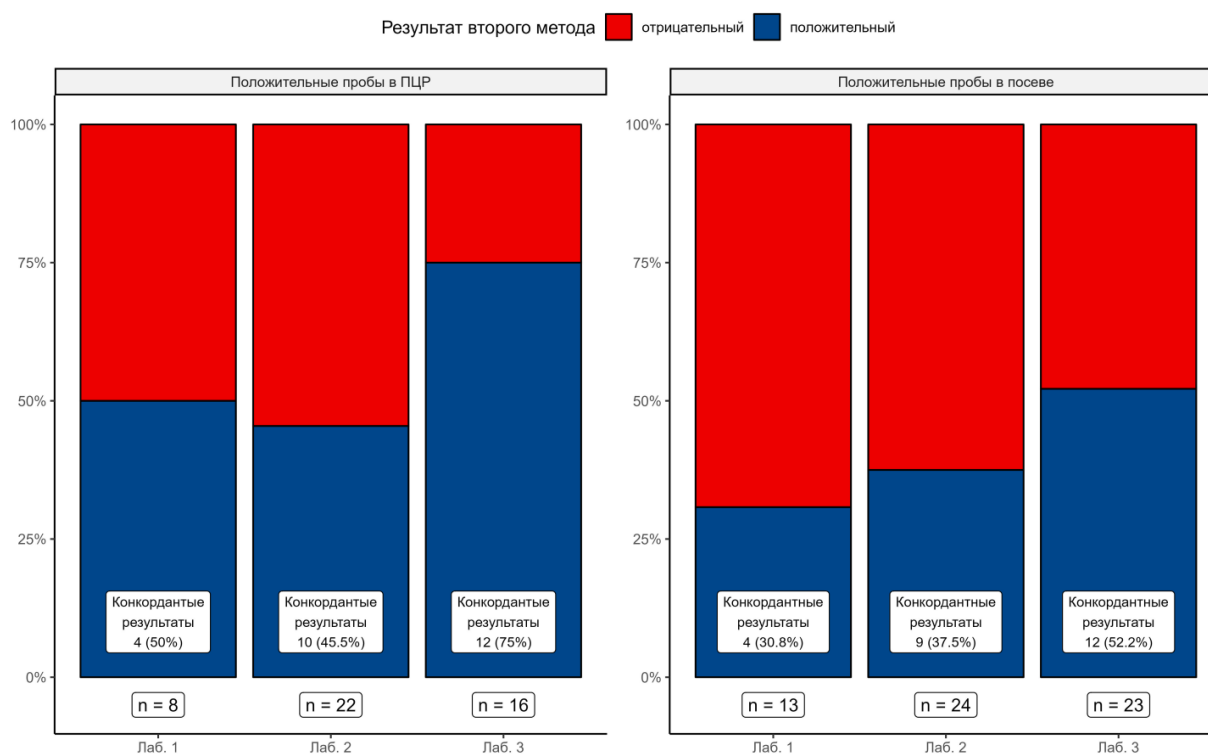


Рис. 2. Сопоставление результатов культурального метода и метода ПЦР-РВ на наличие патогенных и условно-патогенных энтеробактерий

ОБСУЖДЕНИЕ

В настоящем исследовании были оценены возможности культурального метода и метода ПЦР-РВ в обнаружении энтеробактерий и стафилококков в образцах фекалий детей. Методом ПЦР-РВ ДНК бактерий порядка *Enterobacteriales* была обнаружена в 99% проб, в том числе в 86,8% выявляли *E. coli*. В 22,8% образцах удалось обнаружить большее содержание *Enterobacteriales* в сравнении с *E. coli*, на основании чего было сделано заключение о присутствии патогенных и/или условно-патогенных энтеробактерий. Однако культуральным методом данные МО не были обнаружены в 25,0-54,5% пцр+ проб в зависимости от лаборатории.

Культуральный метод позволил выделить и идентифицировать *E. coli* в 90,1% проб, условно-патогенные энтеробактерии – в 29,7% проб и патогенные энтеробактерии в 2 пробах (в обоих случаях были выявлены сальмонеллы). Из положительных в посеве проб на условно-патогенные энтеробактерии методом ПЦР-РВ наличие данной группы МО не удалось выявить в 47,8-69,2% случаев в зависимости от лаборатории. Эти случаи можно объяснить особенностями работы использованной ПЦР-РВ тест-системы (набор «Энтерофлор Дети»), которая позволяет предположить наличие патогенных/условно-патогенных энтеробактерий только в случае, когда количество этих МО превышает количество *E. coli*. Следовательно, результат всегда будет отрицательным, если патогенные/условно-патогенные энтеробактерии присутствовали в образце в меньших чем *E. coli* количествах. При этом клиническая значимость выявления условно-патогенных энтеробактерий в меньших чем *E. coli* количествах нуждается в уточнении.

При прямом сравнении результатов культурального и ПЦР-РВ исследований на *E. coli* сопоставимые результаты были отмечены для 78,8-90,2% проб в зависимости от лаборатории. Большинство дискордантных результатов в Л1 были представлены «посев-пцр+» пробами, в Л2 и Л3 – «посев+пцр-» пробами.

Методом ПЦР-РВ ДНК бактерий рода *Staphylococcus* была обнаружена в 82,7%, а ДНК *S. aureus* – в 51,5% образцов. Тогда как при культуральном исследовании *S. aureus* были выделены только из 34,2% проб, а коагулазонегативные стафилококки – из 6,9% проб. При прямом сравнении результатов культурального и ПЦР-РВ исследований на *S. aureus*

сопоставимые результаты были отмечены для 63,5-70,7% проб в зависимости от лаборатории. Во всех лабораториях дискордантные результаты были чаще представлены «посев-пцр+» пробами.

Как минимум часть дискордантных результатов объясняется разницей в базовых принципах культурального и ПЦР-РВ исследований. При выявлении роста МО в культуральном исследовании отрицательный результат ПЦР-РВ может быть объяснен нарушениями на этапе пробоподготовки, например, попаданием в пробу ингибиторов ПЦР. Тогда как выявление генетического материала целевого МО методом ПЦР-РВ при отрицательном результате посева можно объяснить отсутствием живых, способных к делению бактериальных клеток в образце. Например, такое возможно, если пациент начал принимать antimicrobные препараты до момента взятия биоматериала. Отсутствие роста в данном случае также может быть объяснено присутствием трудно или некультивируемых МО, нарушениями на этапе транспортировки образцов в лабораторию и прочими погрешностями в технике выполнения исследования. Кроме того, дискордантность результатов может объясняться разницей в гено- и фенотипической идентификации МО.

Несмотря на высокий уровень современных методов культуральных и молекулярно-генетических исследований, до сих пор сохраняется высокая зависимость результатов от большого числа внешних и внутренних факторов, оказывающих влияние на преаналитическом и аналитическом этапах. Исследование фекалий детей на состав кишечной микробиоты не является исключением из этого правила. Использование стандартизированной методики оценки кишечной микробиоты позволит снизить вероятность таких ошибок и улучшить воспроизводимость результатов.

ВЫВОДЫ

1. Прямое сравнение результатов культурального метода и ПЦР-РВ с использованием набора реагентов Энтерофлор Дети невозможно и нецелесообразно в силу разницы между фено- и генотипической идентификацией микроорганизмов, разной аналитической чувствительностью методик и особенностей компоновки ПЦР-РВ теста.

2. Культуральным методом выявили патогенные энтеробактерии в 2 (1%) пробах и условно-патогенные энтеробактерии в 60 (29,7%) пробах; ПЦР-РВ позволила предположить наличие патогенных и/или условно-патогенных энтеробактерий в 46 (22,8%) образцах.

3. *S. aureus* обнаруживали в полтора раза чаще методом ПЦР по сравнению с культуральным методом, в то время как частота обнаружения *E. coli* была сопоставима для обоих методов.

4. Определение энтеробактерий и стафилококков в рамках комплексной оценки микробиоты кишечника целесообразно проводить с использованием ПЦР-РВ, тогда как при подозрении на инфекцию желудочно-кишечного тракта предпочтителен культуральный метод.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Протокол ведения больных. Дисбактериоз кишечника. Отраслевой стандарт / Под. ред. А.И. Вялкова, П.А. Воробьева, А.А. Воробьева и др. (Приказ МЗ РФ №231 от 9.06.2003). – М.: ГРАНТЪ, 2004. – 128с.
2. Ардатская, М.Д. Современные принципы диагностики и фармакологической коррекции. / М.Д. Ардатская, О.Н. Минушкин // Гастроэнтерология, приложение к журналу ConsiliumMedicum. – 2006. – Т. 8. – №2. – С. 4-17.
3. Урсова Н.И. Современные подходы к диагностике и коррекции дисбактериозов кишечника у детей / Урсова Н.И. // РМЖ. – 2014. №21. – С. 1492-1496.
4. Урсова Н.И. Дисбактериозы кишечника в детском возрасте: инновации в диагностике, коррекции и профилактике. / Н. И. Урсова // Рук-во для врачей. М. – 2013. – 243 с.
5. Касумова С.М. Современная концепция патогенеза и принципы терапии кишечного дисбиоза у детей / С.М. Касумова // Биомедицина (Баку). – 2007. – №3. – С. 7-12.
6. Microbiota medicine: towards clinical revolution. / P. Gebreyel, C. Nicco, S. Al Khodor [et al.] // J Transl Med. – 2022. – №20(1). – P. 111-131.
7. Сабельникова Е.А. Клинические аспекты дисбактериоза кишечника / Е. А. Сабельникова // ЭиКГ. – 2011. – №3. – С. 111-116.
8. Biodiversity of gut microbiota: impact of various host and environmental factors. / Н. Anwar, A. Iftikhar, H. Muzaffar [et al.] // Biomed Res Int. – 2021. – №9. – P. 557-568.
9. Бондаренко А.В. Дисбактериоз желудочно-кишечного тракта / А.В. Бондаренко, Б. В. Боев, А.А. Воробьев // Рос. журн. гастроэнтерол., гепатол., колопроктол. – 1998. – № 1. – С. 66-70.

10. Microbiota in health and diseases. / K. Hou, Z.X. Wu, X.Y. Chen [et al.] // Signal Transduct Target Ther. – 2022. – №23;7(1). – P. 135-163.
11. Современные методы диагностики дисбактериоза кишечника. / В.П. Булатов, А.А. Камалова, Э.И. Удачина [и др.] // Практическая медицина. – 2010. – №45. – С. 50-54.

Сведения об авторах

А.В. Корнишева – Студент лечебно-профилактического факультета
Д.О. Корнилов* – Студент педиатрического факультета
А.Е. Кейних – Студент лечебно-профилактического факультета
М.А. Тряпицын – Студент педиатрического факультета
В.М. Симарзина – Студент педиатрического факультета
П.Г. Аминева – Ассистент кафедры
Т.М. Итани – Кандидат биологических наук, PhD, зав. лабораторией
Д.Л. Зорников – Кандидат медицинских наук, зав. лабораторией
Е.С. Ворошилина – Доктор медицинских наук, зав. кафедрой

Information about the authors

A.V. Kornisheva – Student of the Faculty of Medicine and Prevention
D.O. Kornilov – Student of Pediatric Faculty
A.E. Keinikh* – Student of the Faculty of Medicine and Prevention
M.A. Tryapitsyn – Student of Pediatric Faculty
V.M. Simarzina – Student of Pediatric Faculty
P.G. Amineva – Department assistant
T.M. Itani – Candidate of Sciences (Biology), PhD, the Lab Head
D.L. Zornikov – Candidate of Sciences (Medicine), the Lab Head
E.S. Voroshilina – Doctor of Science (Medicine), the Department Head

*Автор, ответственный за переписку (Corresponding author):
danilovkornil@gmail.com

УДК: 616.155.392-036.1

ОЦЕНКА ВЗАИМОСВЯЗИ МЕЖДУ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИМ ВАРИАНТОМ ТРАНСЛОКАЦИИ t(12;21)(p13;q22) И КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНЫМИ ДАННЫМИ ДЕТЕЙ С ОСТРЫМ ЛИМФОБЛАСТНЫМ ЛЕЙКОЗОМ

Котов Иван Сергеевич¹, Нохрина Екатерина Сергеевна², Пермикин Жан Викторович^{1,2}, Цаур Григорий Анатольевич^{1,2}

¹Кафедра медицинской микробиологии и клинической лабораторной диагностики ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России

²ГАУЗ СО «Областная детская клиническая больница»

Екатеринбург, Россия

Аннотация

Введение. Транслокация t(12;21)(p13;q22) / ETV6::RUNX1 встречается примерно у 25% детей с острым лимфобластным лейкозом из В-линейных предшественников (ВП-ОЛЛ). Использование метода флуоресцентной гибридизации in situ (FISH) может помочь в обнаружении предполагаемой связи между характером вторичных генетических aberrаций у пациентов с ВП-ОЛЛ и транслокацией t(12;21)(p13;q22) и прогнозом заболевания.

Цель исследования – изучить взаимосвязь между характером FISH-паттерна и клинико-терапевтическими данными у пациентов с ВП-ОЛЛ и транслокацией t(12;21)(p13;q22) / ETV6::RUNX1. **Материал и методы.** Проведено сплошное когортное исследование, включавшее 241 пациента, которым был выполнен анализ методом FISH в период с 2008 по 2023 гг. С помощью статистического анализа исследована взаимосвязь между выявленными FISH-паттернами и некоторыми инициальными данными пациентов. **Результаты.** Определены девять групп пациентов с наиболее распространенными генетическими вариантами транслокации t(12;21)(p13;q22). В каждой группе проведена оценка инициального лейкоцитоза, распределения по полу и возрасту, ответа на индукционную терапию ОЛЛ. **Выводы.** Для транслокации t(12;21)(p13;q22) характерно большое разнообразие молекулярных вариантов, выявляемых с помощью метода FISH. Наиболее частой дополнительной генетической aberrацией является делеция гена ETV6. Некоторые FISH-паттерны ассоциируются с низким уровнем инициального лейкоцитоза, более молодым возрастом пациентов и более высокими значениями минимальной остаточной болезни (МОБ) на 36-й день индукционной терапии.

Ключевые слова: острый лимфобластный лейкоз, дети, транслокация t(12;21)(p13;q22), вторичный генетический вариант