

Мовкаленко Е. В.

СИКВЕНС-ТИПЫ УРОПАТОГЕННЫХ E.COLI

Научные руководители канд. мед. наук, доцент Слизень В. В.

Кафедра микробиологии, вирусологии, иммунологии

Белорусский государственный медицинский университет, г. Минск

Актуальность. Внекишечные патогенные штаммы *Escherichia coli* (*ExPEC*) являются частыми возбудителями острых внебольничных неосложненных инфекций (70-90% клинических случаев), бессимптомной бактериурии (85%), рецидивов инфекционного цистита (60%). Выявление генетической гетерогенности *ExPEC* с использованием современных молекулярно-биологических методов, таких как ПЦР и мультилокусное сиквенс-типирование, позволяет распределять их в филогенетические группы и относить к сиквенс-типам. Некоторые из сиквенс-типов, такие как ST131, ST69, ST95 и ST73, преобладают в качестве причины внебольничных инфекций мочевыводящих путей и инфекций кровотока. *E.coli*, относящиеся к разным сиквенс-типам 69, 73, 95, 131, могут отличаться (STs) спектром устойчивости к антибиотикам, набором генетических детерминант вирулентности. Генетический клон *E. coli* ST131, характеризуется высокой частотой встречаемости резистентности к фторхинолонам, аминогликозидам, присутствием большого набора факторов вирулентности, фимбрий типа 1 аллельного варианта FimH30, продукцией цефотаксимазы CTX-M-15.

Цель: провести генетическое типирование УПКП и определить их сиквенс-типы. Провести анализ корреляции между сиквенс-типами и их резистентностью и вирулентностью, гендерной принадлежностью изолятов.

Материалы и методы. В качестве объектов исследования использовали 120 штаммов уропатогенных *E.coli*, выделенных от больных в УЗ «Городская клиническая инфекционная больница» г. Минска. Экстракцию ДНК проводили температурно-седиментационным методом с использованием 5% раствора Chelex-100. Реакционная смесь для проведения мультипраймерной ПЦР содержала: 1x ПЦР буфер с $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, MgCl_2 – 1,5 мМ, каждого дНТФ – по 2 мМ, CES (10x) – 5 мкл, Taq-полимераза – 1,25 ед., праймеры по 20 пкМ каждого, образец ДНК – 6-10 мкл, воды – add 40 мкл. Состав праймеров для определения сиквенс-типов ST73, ST131, ST95, ST69 был следующим: ST69F-104 – ATCTGGAGGCAACAAGCATA, ST69R-104 – AGAGAAAGGGCGTTCAGAAT, ST95-F-200 – ACTAATCAGGATGGCGAGAC, ST95-R-200 – ATCACGCCCATTAATCCAGT, ST73-F-490 – TGGTTTTACCATTTTGTTCGGA, ST73-R-490 – GGAAATCGTTGATGTTGGCT, 310- ST131-F – GACTGCATTTTCGTCGCCATA, 310- ST131-R – CCGGCGGCATCATAATGAAA. Амплифицировали в следующем режиме: 40 циклов 94° С – 1 мин., 60° С – 1 мин., 72° С – 1 мин. Наличие продуктов амплификации выявляли методом электрофоретического исследования, в 2,5 % агарозном геле содержащем бромид этидия (0,5 мкг/мл), вносили по 16 мкл образцов. Параметры электрофореза – 140 В, 70 мА, 2 часа.

Результаты и их обсуждение. В ходе амплификации различных сиквенс-типов уропатогенных *E.coli* образовывались фрагменты разных размеров: ST69 – 104 п.о., ST73 – 490 п.о., ST95 – 200 п.о., ST131 – 310 п.о.. По размеру образуемых ампликонов проводили идентификацию сиквенс-типа *E.coli*. Было установлено, что 42,5±4,5% изолятов относились к сиквенс-типу - ST69, 14,2±3,18 – к сиквенс-типу ST-73, 2,5±1,4 – к сиквенс-типу ST-95 (3 из 120), 7,5 ±2,4 к сиквенс-типу ST-131 (9 из 120). Остальные изоляты (n=40) – 33,3±4,6% не относились ни к одному из определяемых сиквенс-типов.

Для ST131 обычна характерна продукция β-лактамаз расширенного спектра действия и устойчивость к фторхинолонам. Для *E.coli*, относящихся к ST69, характерна обычно множественная лекарственная устойчивость (MDR), ST95 связан с неонатальным менингитом, ST73 могут содержать ген цефотаксимаз - CTX-M, кодируемый плазмидами

Выводы. Доминирующим сиквенс-типом среди уропатогенных *E.coli* был тип ST-69. Сиквенс-типы 95 и 131 были редкими генетическими вариантами среди УПКП.