

ГУМОРАЛЬНЫЙ ИММУННЫЙ ОТВЕТ НА ШИГА-ТОКСИН 2 (STX2) У ДЕТЕЙ БОЛЬНЫХ ЭШЕРИХИОЗОМ С ГЕМОЛИТИКО- УРЕМИЧЕСКИМ СИНДРОМОМ

Шкуратова М.А.¹,

Хлынцева А.Е.¹,

Калмантаева О.В.¹,

Карцев Н.Н.¹,

Музуров А.Л.^{2,3},

Фирстова В.В.¹

¹ Федеральное государственное учреждение науки «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» входит в состав Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека Российской Федерации, Оболенск, Московская область, Российская Федерация

² Государственное бюджетное учреждение здравоохранения города Москвы «Детская городская клиническая больница святого Владимира Департамента здравоохранения города Москвы»

³ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение дополнительного профессионального образования "Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования" Министерства здравоохранения Российской Федерации

HUMORAL IMMUNE RESPONSE TO SHIGA TOXIN 2 (STX2) IN CHILDREN WITH ESCHERICHIOSIS WITH HEMOLYTIC-UREMIC SYNDROME

Shkuratova M.A.^a,

Khlyntseva A.E.^a,

Kalmantaeva O.V.^a,

Kartsev N.N.^a,

Muzurov A.L.^{b,c},

Firstova V.V.^a

^a State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology, Rospotrebnadzor, Obolensk, Moscow Region, Russian Federation

^b Moscow Clinical Municipal Children Hospital St. Vladimir, Moscow, Russian Federation

^c Federal State Budgetary Educational Institution of Further Professional Education "Russian Medical Academy of Continuous Professional Education" of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation

Резюме. Продуцирующие шига-токсин *Escherichia coli* (STEC) вызывают острые кишечные инфекции, а также являются причиной развития острой почечной недостаточности, особенно у детей. Шига-токсины (Stx), занимают центральное место в патогенезе гемолитико-уремического синдрома (ГУС) при эшерихиозах. В представленной работе проведен анализ эффективности лабораторной диагностики энтерогеморрагического эшерихиоза у больных на стадии проявления ГУС и/или острой почечной недостаточности (ОПН) с использованием микробиологических, иммунологических методов исследования и ПЦР-анализа. В исследовании использовали клинический материал от 30 пациентов педиатрического отделения интенсивной терапии ГБУЗ «Детская городская клиническая больница святого Владимира» города Москвы с симптомами ГУС в возрасте от 8 месяцев до 5 лет. В качестве контроля использовали сыворотки крови 20 здоровых доноров. В результате проведения ПЦР-анализа ДНК *stx2* было выявлено в 23,3% случаях. Бактериологическое исследование позволило высеять чистую культуру *Escherichia coli* O157:H7 только в 3,3% случаев. Поскольку развитие ГУС начинается у больных острой кишечной инфекцией вызванной шига-токсин-продуцирующими микроорганизмами начиная с 5 дня заболевания, когда уже проводится антибиотикотерапия, бактерии могут быть полностью уничтожены, что затрудняет их выявление бактериологическими методами, а также обнаружение генов, кодирующих шига-токсин в ПЦР-анализе. Обычно больные с ГУС поступают в отделение интенсивной терапии на 5-7 день от начала заболевания, когда в крови уже начинают циркулировать специфические к патогену иммуноглобулины класса G. В связи с этим использование иммунологических анализов может быть эффективным для подтверждения диагноза STEC-инфекции. В наших исследованиях иммуноферментный анализ позволил обнаружить антитела к Stx2A у 63,3%, а к Stx2B – у 43.3% больных. Методом иммуноблоттинга во всех сыворотках, полученных от больных были обнаружены антитела к Stx2A,

и в 66,7% случаев к Stx2В. Иммуноблот-анализ характеризовался более высокой чувствительностью для выявления антител к Stx2, однако в связи с наличием иммунологической прослойки среди здоровых людей предпочтительно использовать ИФА-анализ. У здоровых доноров при наличии антител к Stx2 титр антител был достоверно ниже, чем у больных. Таким образом, лабораторное подтверждение диагноза STEC-инфекции затруднено при проведении микробиологических и молекулярно-генетических исследований, что подтверждается в данной работе. Расширить эффективность лабораторной диагностики может постановка ИФА, направленного на выявление антител к Stx2А.

Ключевые слова: шига-токсин, *Escherichia coli*, гемолитико-уремический синдром, антитела, ПЦР, иммуноблоттинг, иммуноферментный анализ

Abstract. Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) causes acute intestinal infections and also causes acute renal failure, especially in children. Shiga toxins (Stx) occupy a central place in the pathogenesis of hemolytic uremic syndrome (HUS) in Escherichiosis. The presented work analyzes the effectiveness of laboratory diagnostics of enterohemorrhagic escherichiosis in patients at the stage of manifestation of HUS and/or acute renal failure using microbiological, immunological research methods and PCR analysis. The study used clinical material from 30 patients in the pediatric intensive care unit of the St. Vladimir Children's City Clinical Hospital in Moscow with symptoms of HUS aged from 8 months to 5 years. Blood sera from 20 healthy donors were used as control. As a result of PCR analysis, stx2 DNA was detected in 23.3% of cases. Bacteriological research made it possible to sow a pure culture of *Escherichia coli* O157:H7 in only 3.3% of cases. Since the development of HUS begins in patients with acute intestinal infection caused by Shiga toxin-producing microorganisms starting from the 5th day of the

disease, when antibiotic therapy is already carried out, the bacteria can be completely destroyed, which makes it difficult to identify them by bacteriological methods, as well as to detect genes encoding Shiga toxin in PCR analysis. Typically, patients with HUS are admitted to the intensive care unit 5-7 days after the onset of the disease, when class G immunoglobulins specific to the pathogen are already beginning to circulate in the blood. In this regard, the use of immunological tests can be effective to confirm the diagnosis of STEC infection. In our studies, enzyme immunoassay allowed us to detect antibodies to Stx2A in 63.3%, and to Stx2B in 43.3% of patients. Using immunoblotting, antibodies to Stx2A were detected in all sera obtained from patients, and in 66.7% of cases to Stx2B. Immunoblot analysis was characterized by higher sensitivity for detecting antibodies to Stx2, however, due to the presence of an immunological layer among healthy people, it is preferable to use ELISA analysis. In healthy donors with antibodies to Stx2, the antibody titer was significantly lower than in patients. Thus, laboratory confirmation of the diagnosis of STEC infection is difficult when conducting microbiological and molecular genetic studies, which is confirmed in this work. The effectiveness of laboratory diagnostics can be expanded by performing an ELISA aimed at detecting antibodies to Stx2A.

Keywords: Shiga toxin, Escherichia coli, hemolytic-uremic syndrome, antibodies, PCR, immunoblotting, enzyme-linked immunosorbent assay

1 **Введение.**

2 Прогрессирование кишечной инфекции, вызванной продуцирующими
3 шига-токсин штаммами *Escherichia coli* (STEC) - эшерихиоза, может
4 приводить к тяжёлым для жизни осложнениям, таким как гемолитико-
5 уремический синдром (ГУС), который представляет собой тромботическую
6 микроангиопатию, характеризующуюся острой почечной недостаточностью,
7 тромбоцитопенией и гемолитической анемией [4].

8 Во всем мире на долю STEC-инфекций ежегодно приходится 2,8
9 миллиона острых заболеваний, из которых 3890 случаев сопровождается
10 развитием ГУС [6, 8, 10]. Ассоциированный со STEC-штаммами ГУС
11 составляет до 90% случаев ГУС у детей и является самой частой причиной
12 острой почечной недостаточности в детском возрасте. В России вспышки
13 STEC-ГУС и спорадические случаи регистрируются в Московском,
14 Поволжском регионах, Омске, Иваново, Оренбурге. Наиболее часто
15 встречающимся серотипом, вызывающим серьезные вспышки и
16 спорадические случаи типичного ГУС, является штамм *E. coli* O157:H7 (реже
17 O111, O103, O121 и др.) [3].

18 Патогенность STEC-штаммов обусловлена продукцией шига-токсинов
19 (Stx), вызывающих гибель клеток вследствие инактивации рибосом и
20 прекращения синтеза белка. Семейство Stx включает два типа белков (Stx1 и
21 Stx2) [8]. Известно, что при заболеваниях, вызванных штаммами,
22 продуцирующими Stx2, ГУС развивается в 6,8 раз чаще, чем при инфекциях,
23 вызванных штаммами, продуцирующими Stx1 или одновременно Stx1 и Stx2
24 [3]. Данные белки имеют структуру АВ₅ и состоят из одной ферментативно-
25 активной субъединицы А (32 кДа), связанной с пентамером субъединиц В
26 (8 кДа). Шига-токсины вырабатываются во время колонизации бактериями
27 *E. coli* слизистой оболочки кишечника, где проникают в кровоток [11].
28 Защитный иммунитет к инфекции STEC, вероятно, обеспечивается

29 антителами, которые ингибируют колонизацию кишечника, и антителами,
30 которые нейтрализуют Stx [9].

31 «Золотым» стандартом диагностики энтерогеморрагического
32 эшерихиоза является микробиологический высеv чистой культуры шига-
33 токсин продуцирующего штамма *E. coli*. Однако в связи с широким
34 использованием антибиотиков, а также с поздним поступлением в ряде
35 случаев больного в стационар это не всегда осуществимо. Еще одним
36 подходом к диагностике является использование метода амплификации
37 нуклеиновых кислот для выявления генетических маркеров
38 энтерогеморрагических *E. coli* (EHEC) - O157, *stx1*, *stx2*, *eae*. В результате
39 STEC-инфекции в организме формируются антитела, которые можно выявить
40 в ИФА или иммуноблоте.

41 Цель настоящего исследования – провести микробиологические,
42 иммунологические исследования и ПЦР-анализ клинического материала,
43 выделенного от больных детей с ГУС, развившемся на фоне острой кишечной
44 инфекции (ОКИ), для обнаружения шига-токсин продуцирующего штамма
45 *Escherichia coli*, антител к Stx2 и/или генов *stx2*.

46

47 **Материалы и методы**

48 *Исследуемые образцы.* Клинический материал был получен от
49 30 пациентов в возрасте от 8 месяцев до 5 лет с типичными симптомами ГУС,
50 в острой фазе кишечной инфекции. У всех пациентов ГУС развился после
51 гастроэнтерита с продромальным периодом диареи в среднем 7,5 дней.
52 Образцы клинического материала (фекалии, сыворотка крови) были получены
53 в педиатрическом отделении интенсивной терапии города Москвы (ГБУЗ
54 «Детская городская клиническая больница святого Владимира») в 2023 году.
55 В качестве контроля использовали образцы сыворотки 20 здоровых доноров
56 без признаков инфекционного заболевания или симптомов желудочно-
57 кишечных расстройств, по крайней мере, в течение предшествующих 30 дней.

58 До проведения экспериментов образцы сохранялись в условиях
59 низкотемпературной заморозки ($-68-70^{\circ}\text{C}$). Родители дали информированное
60 согласие на участие своих детей в исследовании.

61 *Рекомбинантные субъединицы А и В шига-токсина 2 типа (Stx2A и*
62 *Stx2B) были получены ранее в нашей лаборатории [2].*

63 *Иммуноблоттинг.* Для постановки иммуноблоттинга (ИБ) проводили
64 электрофорез рекомбинантных субъединиц шига-токсина 2 типа в 15%
65 полиакриламидном геле по методу Леммли, на дорожку вносили 3 мкг/лунку
66 каждого белка в невосстанавливающих условиях. Переносили гель на
67 нитроцеллюлозную мембрану с помощью полуэлектридной ячейки для
68 переноса TransBlot SD SemiDry (Bio-Rad) по стандартному протоколу. После
69 блокировки мембран в 1% молоке, инкубировали их с сыворотками в
70 разведении 1:200 в течение 2 ч. В качестве положительного контроля
71 использовали ПАТ против А- и В-субъединицы шига-токсина 2 типа;
72 отрицательным контролем выступала сыворотка здорового человека. Второе
73 антитело для детекции поликлональных антител было козьим анти-мышинным,
74 связанным с пероксидазой хрена (Sigma-Aldrich, США), и использовалось в
75 разведении 1:5000, во всех остальных случаях – козьим против гамма-цепи
76 иммуноглобулина G человека, связанным с пероксидазой хрена (Sigma-
77 Aldrich, США), и использовалось в разведении 1:5000. Для визуализации
78 использовали в качестве субстрата 3,3-диаминобензидин тетрагидрохлорид
79 (ДАБ, Sigma).

80 *Иммуноферментный анализ.* Для тестирования использовали 96-
81 луночные планшеты (Costar, USA), сенсibilизированные рекомбинантными
82 белками Stx2A и Stx2B в концентрации 10 мкг/мл. Для анализа использовали
83 двукратные разведения образцов сыворотки в диапазоне от 1:20 до 1:2560. В
84 качестве отрицательного контроля были взяты сыворотки крови здоровых
85 доноров. В рабочем разведении применяли конъюгат человеческих
86 иммуноглобулинов с пероксидазой хрена (Sigma-Aldrich, США). Реакцию

87 проявляли раствором субстрата – 3,3',5,5'-тетраметилбензидина (ТМВ, Sigma).
88 Оптическую плотность измеряли на фотометре Multiskan (Labsystems, США)
89 при длине волны 450 нм (ОП 450). Каждый образец сыворотки тестировали
90 минимум дважды и определяли среднюю ОП.

91 *Микробиологический анализ.* Бактериологическое исследование
92 образцов проводили с использованием среды обогащения (бульон, Мак-
93 Конки) с последующим высевом на содержащие сорбитол среды.

94 *ПЦР-анализ.* Идентификацию генов *stx2* осуществляли в соответствии с
95 методиками референс-лаборатории Европейского Союза (EU-RL
96 VTEC_Method_02_Rev 0 и EU-RL VTEC_Method_006_Rev 1, EU Reference
97 Laboratory VTEC, Rome, Italy).

98 *Статистический анализ.* В ходе обработки результатов, полученных
99 методом ИФА, определяли пороговое значение для данных с учетом
100 максимальной чувствительности и специфичности, а также с использованием
101 кривой рабочей характеристики приемника (ROC).

102

103 **Результаты и обсуждение**

104 ПЦР-анализ испражнений, выделенных у детей с типичными
105 симптомами ГУС, в острой фазе кишечной инфекции, позволил выявить гены
106 *stx2* в 23,3 % случаев. Бактериологические исследования позволили высеять
107 чистую культуру *E. coli* O157:H7 только в 1 образце (3,3%). Данные
108 результаты могут быть обусловлены, прежде всего, активной
109 антибиотикотерапией, приводящей к быстрому уничтожению патогенна и
110 выведению его из организма.

111 Результаты иммуноблота выявили наличие антител одновременно к
112 обеим субъединицам шига-токина 2 в сыворотке крови у 66,7% пациентов с
113 ГУС. Однако у 20% здоровых доноров также были выявлены антитела
114 одновременно к обеим субъединицам шига-токина 2. В 100% случаев у
115 больных были обнаружены антитела к субъединице А и у 50% здоровых

116 доноров были обнаружены антитела к А-субъединице Stx2. Антитела,
117 реагирующие только с субъединицей В (без наличия антител к А
118 субъединице), не были обнаружены в сыворотках крови доноров.
119 Репрезентативный ответ IgG на Stx2, обнаруженный с помощью ИБ в
120 сыворотке пациентов с ГУС и доноров контрольной группы, показан на
121 рисунке 1.

122

123

124 Рисунок 1. Примеры результатов выявления методом иммуноблот-
125 анализа IgG антител к Stx2А и Stx2В в сыворотках крови больных с
126 типичными симптомами ГУС, в острой фазе кишечной инфекции

127 Дорожка 1 – положительный контроль, мышинные поликлональные
128 антитела;

129 Дорожка 2 – отрицательный контроль – здоровый донор;

130 Дорожки 3-6 - больные с типичными симптомами ГУС, в острой фазе
131 кишечной инфекции (образцы №2, 3, 19, 30 соответственно; данные по другим
132 образцам не представлены)

133

134 Шестнадцать пациентов с ГУС (53,3%), у которых по данным ИБ были
135 обнаружены антитела к субъединицам А или АВ, также были
136 положительными в ИФА. У 7 здоровых доноров (35%), у которых по данным
137 ИБ были выявлены IgG к субъединицам А или АВ Stx2, были
138 положительными и по данным ИФА. Сравнение данных оптической
139 плотности, полученных в результате ИФА с сыворотками крови к Stx2А и
140 Stx2В у пациентов с ГУС и здоровых доноров представлены на рисунке 2.

141

142

143 Рисунок 2. Значения оптической плотности, отражающие наличие и
144 уровень IgG к субъединицам Stx2 у больных с типичными симптомами ГУС,
145 в острой фазе кишечной инфекции

146 Сравнение данных оптической плотности, полученных в результате
147 ИФА с сыворотками крови к Stx2A (А) и Stx2B (Б) у пациентов с ГУС и
148 здоровых доноров (контроль). Значения оптической плотности,
149 представляющие уровень IgG против Stx2, показаны индивидуально и
150 соответствуют средней ОП двух независимых анализов, выполненных в двух
151 лунках. Горизонтальная линия (ОП = 1,498) представляет пороговое значение,
152 определённое с помощью кривой ошибок.

153

154 По данным ИФА у 60% пациентов с типичными симптомами ГУС, в
155 острой фазе кишечной инфекции, были выявлены антитела к А-субъединице
156 Stx2. Среди здоровых доноров антитела к Stx2 А-субъединице были
157 обнаружены у 35% исследуемых, уровень оптической плотности не превышал
158 значения 2,2. В группе больных показатели оптической плотности колебались
159 в районе 2,3-3, т.е. титры антител к Stx2 А-субъединице были выше. В 43,3%
160 случаев у больных в сыворотке крови были выявлены титры к субъединице В
161 Stx2 и только в 10% - у здоровых доноров с низким уровнем оптической
162 плотности детектировались антитела к субъединице В Stx2. Среднее значение
163 ОП было в группе больных составило 1,80 для Stx2А и 1,51 –для Stx2В, в
164 группе контроля 1,091 - для Stx2А и 0,65 - для Stx2В.

165 Наличие антител к Stx снижают риск ГУС. Подтверждением того, что
166 эти антитела к Stx играют роль в защитном иммунитете, основано на
167 экспериментальных и клинических данных [9]. Ряд исследований выявили
168 увеличение вероятности обнаружения антител к Stx у людей старшего
169 возраста, которые устойчивы к ГУС-индуцирующим эшерихиозам [5, 9].
170 Кроме того, иммунизация лабораторных животных субъединицей В Stx и

171 слитыми белками индуцирует нейтрализующие антитела, которые защищают
172 мышей от заражения *E. coli* O157:H7 или токсинов [7].

173 Несмотря на высокую частоту выявления антител IgG против Stx2 среди
174 здоровых доноров в настоящем исследовании, мы заметили, что среднее
175 значение оптической плотности, полученное с помощью ИФА, было выше у
176 больных доноров. Наличие антител к Stx2 у некоторых здоровых доноров
177 указывает на его недавний контакт с патогенными *E. coli*, но благодаря
178 иммунологической памяти развития инфекционного процесса не произошло.
179 Наличие антител IgG к Stx2, среди здоровых доноров может быть обусловлено
180 предшествующей инфекцией других шигатоксин-продуцирующих патогенов
181 [1]. Высокие титры антител (увеличение оптической плотности в ИФА) у
182 больных отражают развитие инфекционного процесса и формирование
183 защитного иммунного ответа.

184 Сравнение информативности ПЦР-анализа и бактериологического, а
185 также иммунологических исследований представлены на рисунке 3.

186

187

188 Рисунок 3. Сравнение информативности методов исследований для
189 подтверждения STEC-инфекции у пациентов с острой кишечной инфекцией
190 (ОКИ) на стадии развития ГУС

191

192 Таким образом, мы провели микробиологические, иммунологические
193 исследования и ПЦР-анализ клинического материала, выделенного от детей
194 больных ОКИ с ГУС, для обнаружения шига-токсин продуцирующего штамма
195 *Escherichia coli*, антител к Stx2 и/или генов *stx2*. В результате постановки ИБ
196 и проведения ИФА были выявлены антитела IgG к Stx2 в сыворотках детей
197 больных острой кишечной инфекцией с ГУС. В настоящем исследовании было
198 показано, что у всех больных детей к 7-8 дню от начала заболевания
199 выявлялись антитела IgG к субъединице А Stx2. Антитела сывороток

200 пациентов с ГУС и доноров из контрольной группы реагировали
201 преимущественно с субъединицей А Stx2. При этом было также обнаружено,
202 что в сыворотке крови могут находиться антитела только к субъединице А
203 Stx2 или к обеим субъединицам (А и В) Stx2 одновременно, но не было
204 выявлено ни одной сыворотки в которой содержались бы только антитела к
205 субъединице В Stx2. Это позволяет предположить более важную роль антител
206 к субъединице А Stx2 в формировании протективного иммунитета против
207 STEC-инфекций.

208 Между результатами ИБ и ИФА наблюдалась средняя корреляция (0,53)
209 по шкале Чеддока. Иммуноблот является более чувствительной реакцией по
210 сравнению с ИФА, однако наличие иммунной прослойки людей затрудняет
211 постановку диагноза STEC-инфекции на основании данных ИБ.

212 ГУС формируется как осложнение острой кишечной инфекции и, как
213 правило, к моменту поступления пациента в отделение интенсивной терапии
214 уже ведется активное лечение антибиотиками. В связи с этим
215 бактериологические высева из клинического материала для получения чистой
216 культуры патогена малоэффективны. То же самое относится к эффективности
217 применения ПЦР-анализа для подтверждения STEC-инфекции, который также
218 на 7-8 день от начала проявления острого кишечного заболевания становится
219 малоинформативным. Для подтверждения диагноза STEC-инфекции, важно
220 проводить комплексный анализ, в том числе с использованием
221 иммунологических методов, которые могут способствовать выявлению
222 причины заболевания при отсутствии бактерий и/или генов патогенных
223 микроорганизмов в клиническом материале.

224

225 **Заключение**

226 Представлены результаты исследования клинических образцов на
227 наличие маркеров STEC-штаммов. Иммунологические анализы,
228 направленные на выявление специфических антител к Stx2, по всей

229 видимости, являются высокоинформативными для подтверждения диагноза у
230 пациентов с острой кишечной инфекцией на стадии развития ГУС.
231 Иммуноблот-анализ характеризовался более высокой чувствительностью для
232 выявления антител к Stx2, однако в связи с наличием иммунологической
233 прослойки среди здоровых людей предпочтительно использовать ИФА-
234 анализ. У здоровых доноров при наличии антител к Stx2 титр антител был
235 достоверно ниже, чем у больных.

236 Таким образом, лабораторное подтверждение диагноза STEC-инфекции
237 затруднено при проведении микробиологических и молекулярно-
238 генетических исследований, что подтверждается в данной работе. Расширить
239 эффективность лабораторной диагностики может постановка ИФА,
240 направленного на выявление антител к Stx2A.

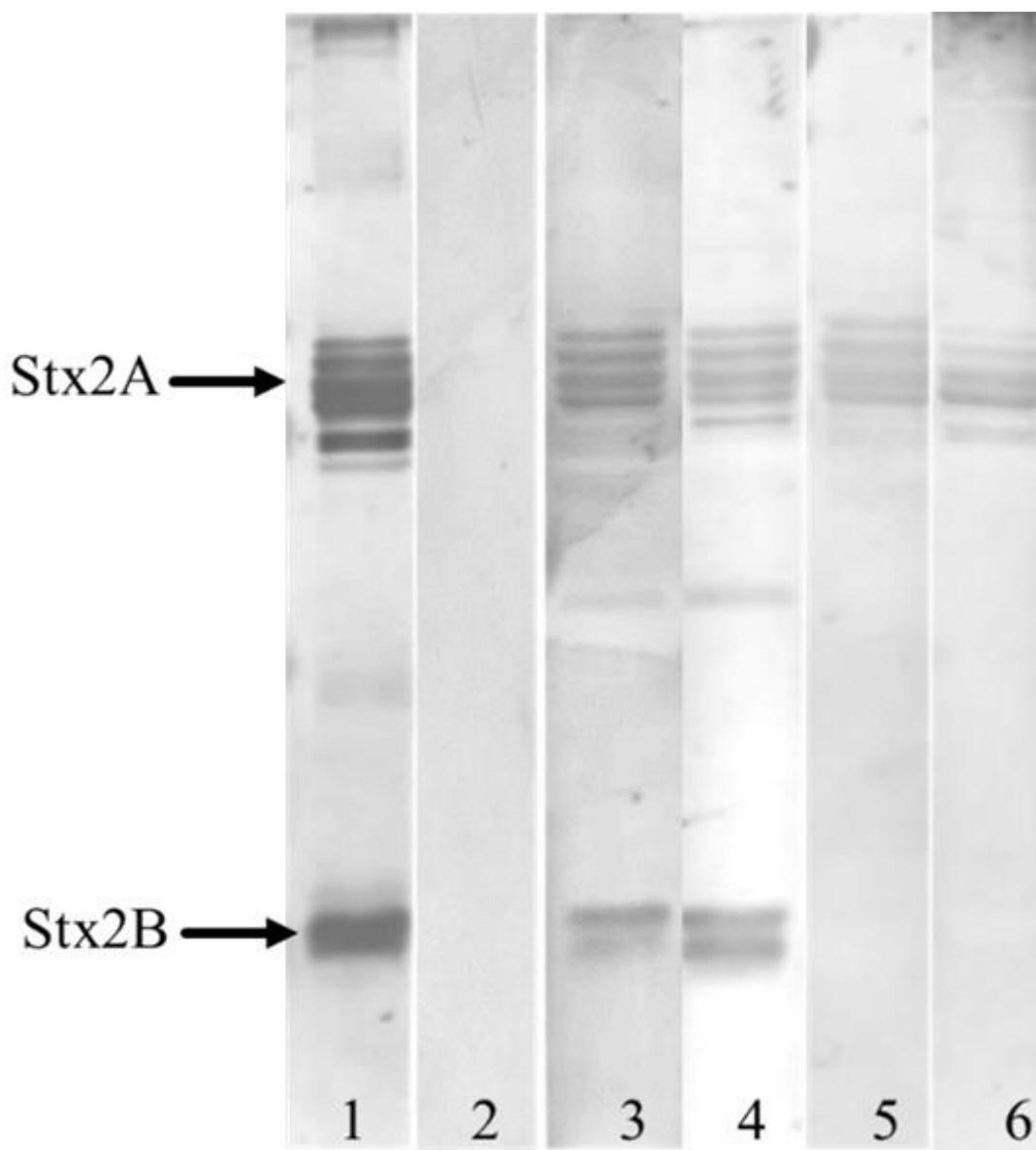
241

242 Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

РИСУНКИ

Рисунок 1. Примеры результатов выявления методом иммуноблот-анализа IgG антител к Stx2A и Stx2B в сыворотках крови больных с типичными симптомами ГУС, в острой фазе кишечной инфекции

Figure 1. Examples of the results of detection of IgG antibodies to Stx2A and Stx2B by immunoblot analysis in the blood sera of patients with typical symptoms of HUS, in the acute phase of intestinal infection



Примечание. Дорожка 1 – положительный контроль, мышинные поликлональные антитела;

Дорожка 2 – отрицательный контроль – здоровый донор;

Дорожки 3-6 - больные с типичными симптомами ГУС, в острой фазе кишечной инфекции (образцы №2, 3, 19, 30 соответственно; данные по другим образцам не представлены)

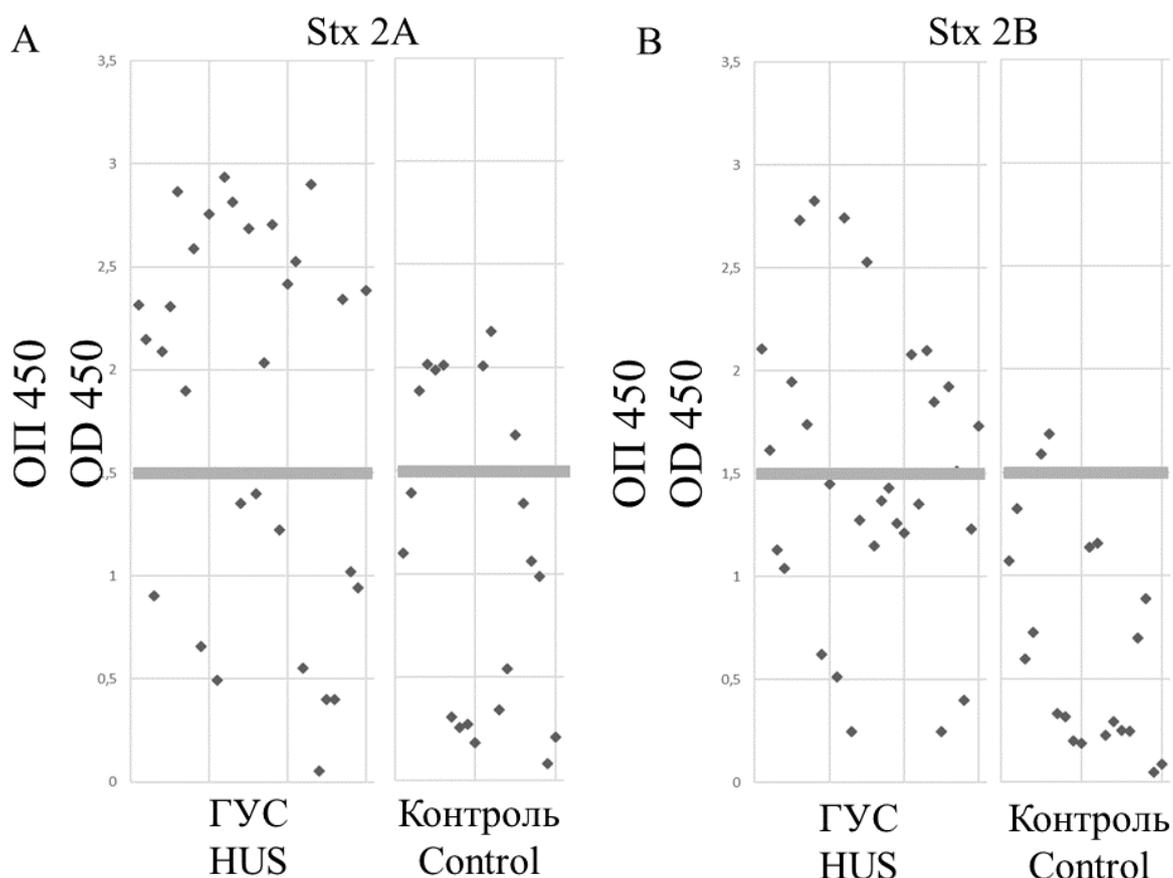
Note. Lane 1 – positive control, mouse polyclonal antibodies;

Lane 2 – negative control – healthy donor;

Lanes 3-6 patients with typical symptoms of HUS, in the acute phase of intestinal infection (samples No. 2, 3, 19, 30, respectively; data on other samples are not presented)

Рисунок 2. Значения оптической плотности, отражающие наличие и уровень IgG к субъединицам Stx2 у больных с типичными симптомами ГУС, в острой фазе кишечной инфекции

Figure 2. Optical density values reflecting the presence and level of IgG to Stx2 subunits in patients with typical symptoms of HUS in the acute phase of intestinal infection

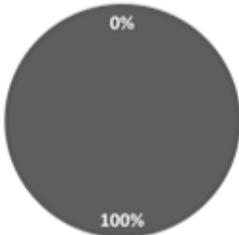
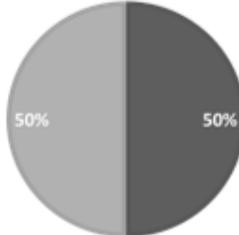
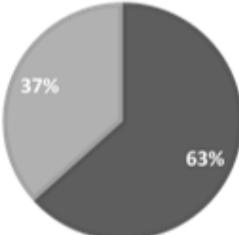
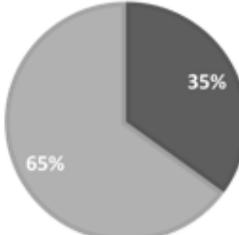
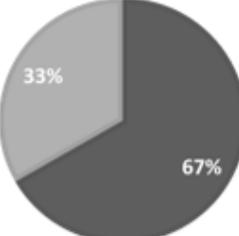
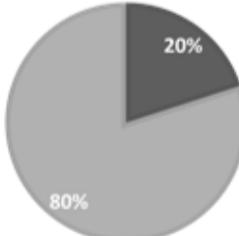
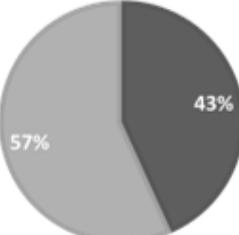
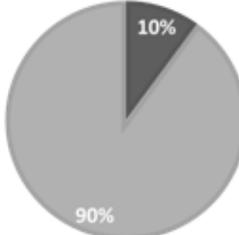
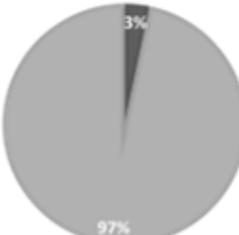
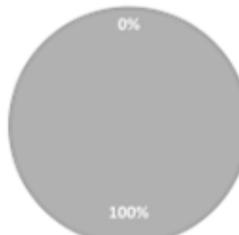
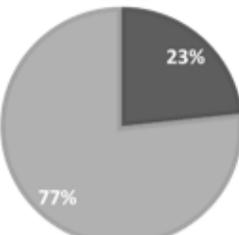
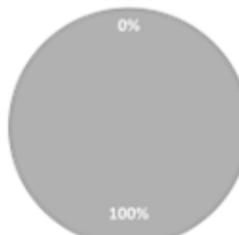


Примечание. Сравнение данных оптической плотности, полученных в результате ИФА с сыворотками крови к Stx2A (А) и Stx2B (Б) у пациентов с ГУС и здоровых доноров (контроль). Значения оптической плотности, представляющие уровень IgG против Stx2, показаны индивидуально и соответствуют средней ОП двух независимых анализов, выполненных в двух лунках. Горизонтальная линия (ОП = 1,498) представляет пороговое значение, определённое с помощью кривой ошибок.

Note. Comparison of optical density data obtained as a result of ELISA with blood sera to Stx2A (A) and Stx2B (B) in patients with HUS and healthy donors (control). Optical density values representing anti-Stx2 IgG levels are shown individually and correspond to the average OD of two independent assays performed in two wells. The horizontal line (OP = 1.498) represents the threshold value determined using the error curve.

Рисунок 3. Сравнение информативности методов исследований для подтверждения STEC-инфекции у пациентов с острой кишечной инфекцией (ОКИ) на стадии развития ГУС

Figure 3. Comparison of the information content of research methods for confirming STEC infection in patients with acute intestinal infection (AIE) at the stage of HUS development

| Выявление Identification | Метод исследования Research method | Больные ГУС Patients with HUS | Здоровые Healthy |
|------------------------------------|--|---|---|
| IgG к Stx2A IgG to Stx2A | ИБ WB |  |  |
| | ИФА ELISA |  |  |
| IgG к Stx2B IgG to Stx2B | ИБ WB |  |  |
| | ИФА ELISA |  |  |
| <i>E. coli</i> O157:H7 | Микробиологические исследования Microbiological studies |  |  |
| ген <i>stx2</i> <i>stx2</i> gen | ПЦР PCR |  |  |
| | |  - Процент положительных результатов - Percentage of positive results |  - Процент отрицательных результатов - Percentage of negative results |

ТИТУЛЬНЫЙ ЛИСТ_МЕТАДААННЫЕ

Блок 1. Информация об авторе ответственном за переписку

Шкуратова Мария Андреевна, младший научный сотрудник лаборатории молекулярной биологии в ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора

Адрес: 142279, Московская обл., г.о. Серпухов, р.п. Оболенск, Территория «Квартал А», 24

Телефон: (4967) 36-00-03, 89038935618

E-mail: shkuratova@obolensk.org

Maria A. Shkuratova, Junior Researcher, Laboratory of Molecular Biology, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology, Rosпотребнадзор;

Address: SRCAMB Bld. 24, “Quarter A” Territory, 142279, Obolensk,

City District Serpukhov, Moscow Region, Russian Federation

Phone: (4967) 36-00-03, 89038935618

E-mail: shkuratova@obolensk.org

Блок 2. Информация об авторах

Хлынцева А. Е., кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории молекулярной биологии в ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора

Khlyntseva A. E., PhD (Biological Science), Researcher, Laboratory of Molecular Biology, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology, Rosпотребнадзор;

Калмантаева О. В., кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории молекулярной биологии в ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора

Kalmantaeva O. V., PhD (Biological Science), Researcher, Laboratory of Molecular Biology, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology, Rospotrebnadzor

Карцев Н. Н., кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории антимикробных препаратов отдела молекулярной микробиологии ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора

Kartsev N. N., MD, PhD, Senior Researcher of Antimicrobial Agents Laboratory, Molecular Microbiology Department, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology of Rospotrebnadzor

Музуров А. Л., кандидат медицинских наук, заведующий отделением Центра гравитационной хирургии крови и гемодиализа ГБУЗ «ДГКБ Св. Владимира ДЗМ», доцент кафедры анестезиологии, реаниматологии и токсикологии детского возраста ГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного последипломного образования» Минздрава России.

Muzurov A. L., Ph. D. Med., Head of Department of Center of Gravitational Blood Surgery and Hemodialysis Moscow Clinical Municipal Children Hospital St. Vladimir; Moscow of Healthcare department; Associate Professor, Department of Pediatric Anesthesiology, Critical Care Medicine and Toxicology, Russian Medical Academy of Continuous Professional Education Ministry of Healthcare of Russia.

Фирстова В. В., доктор биологических наук, главный научный сотрудник лаборатории молекулярной биологии в ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора

Firstova V. V., PhD, DSc (Biological Science), Chief Researcher, Laboratory of Molecular Biology, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology, Rospotrebnadzor.

Блок 3. Метаданные статьи

ГУМОРАЛЬНЫЙ ИММУННЫЙ ОТВЕТ НА ШИГА-ТОКСИН 2 (STX2) У ДЕТЕЙ БОЛЬНЫХ ЭШЕРИХИОЗОМ С ГЕМОЛИТИКО-УРЕМИЧЕСКИМ СИНДРОМОМ

HUMORAL IMMUNE RESPONSE TO SHIGA TOXIN 2 (STX2) IN CHILDREN WITH ESCHERICHIOSIS WITH HEMOLYTIC-UREMIC SYNDROME

Сокращенное название статьи для верхнего колонтитула:

Иммунный ответ на Stx2

Immune response to Stx2

Ключевые слова: шига-токсин, *Escherichia coli*, гемолитико-уремический синдром, антитела, ПЦР, иммуноблоттинг, иммуноферментный анализ

Keywords: Shiga toxin, *Escherichia coli*, hemolytic-uremic syndrome, antibodies, PCR, immunoblotting, enzyme-linked immunosorbent assay

Раздел Объединенный иммунологический форум 2024

Количество страниц текста – 9

Количество таблиц – 0

Количество рисунков – 3

Дата поступления: 01.04.2024

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

| Порядковый номер ссылки | Авторы, название публикации и источника, где она опубликована, выходные данные | ФИО, название публикации и источника на английском | Полный интернет-адрес (URL) цитируемой статьи или ее doi. |
|-------------------------|---|---|---|
| 1 | Малов В.А., Малеев В.В., Козловская Н.Л., Цветкова Н.А., Сметанина С.В., Горобченко А.Н., Серова В.В., Ченцов В.Б., Волков А.Г., Фаллер А.П. Трудности диагностики гемолитико-уремического синдрома, ассоциированного с диареей, у взрослых // <i>Терапевтический архив</i> . - 2017. Т. 89, №11, С. 69-78 | Malov V.A., Maleev V.V., Kozlovskaya N.L., Tsvetkova N.A., Smetanina S.V., Gorobchenko A.N., Serova V.V., Chentsov V.B., Volkov A.G., Faller A.P. Difficulties in the diagnosis of diarrhea-associated hemolytic uremic syndrome in adults // <i>Terapevticheskii arkhiv</i> . - 2017. - Vol. 89, no. 11, pp. 69-78 (In Russ.) | https://ter-arkhiv.ru/0040-3660/article/view/32329 [doi: 10.17116/terarkh2017891169-78] |
| 2 | Шкуратова М.А., Марьин М.А., Рогозин М.М., Сурин А.К., | Shkuratova M.A., Maryin M.A., Rogozin M.M., Surin A.K., Kolombet L.V., | https://obolensk.org/bacteriology/archive-numbers/item/379- |

| | | | |
|---|--|--|--|
| | Коломбет Л.В., Фирстова В.В. Получение и масс-спектрометрическая характеристика рекомбинантных субъединиц шига-токсинов первого и второго типов (Stx1 и Stx2) <i>Escherichia coli</i> . <i>Бактериология. 2021. Т. 6, №4, С. 30-38</i> | Firstova V.V. Preparation and mass-spectrometric characteristics of recombinant shiga-toxin units of the first and second types (Stx1 and Stx2) <i>Escherichia coli</i> . <i>Bacteriology. 2021. Vol. 6, no. 4, pp. 30–38 (In Russ.)</i> | shkuratova2021-6-4-p30-38 [doi: 10.20953/2500-1027-2021-4-30-38] |
| 3 | Эмирова Х.М., Толстова Е.М., Каган М.Ю. и др. Гемолитико-уремический синдром, ассоциированный с шига-токсином-продуцирующей <i>Escherichia coli</i> . <i>Нефрология. 2016. Т.20, №2, С. 18–32.</i> | Emirova Kh., Tolstova E.M., Kagan O.M., Orlova M.Yu., Abaseeva T., Pancratenko T.E., Shpikalova I.Yu. Hemolytic uremic syndrome associated with shiga-toxin-producing <i>Esherichia coli</i> . <i>Nephrology (Saint-Petersburg). 2016. Vol. 20, no. 2, pp. 18-32. (In Russ.)</i> | URL: https://cyberleninka.ru/article/n/gemolitiko-uremicheskiy-sindrom-assotsiirovannyu-s-shiga-toksin-produtsiruyushey-esherichia-soyii (дата обращения: 30.03.2024). |
| 4 | | Ariceta G. Hemolytic Uremic Syndrome. <i>Current Treatment Options in Pediatrics. 2020. Vol. 6, no. 4, pp.252-262.</i> | https://link.springer.com/article/10.1007/s40746-020-00216-1 [doi: 10.1007/s40746-020-00216-1] |
| 5 | | Barrett T.J., Green J.H., Griffin P.M., Pavia A.T., Ostroff S.M., Wachsmuth | https://link.springer.com/article/10.1007/BF02092278 |

| | | | |
|---|--|---|--|
| | | L.K.: Enzyme linked immunosorbent assays for detecting antibodies to Shiga-like toxin I, Shiga-like toxin II, and <i>Escherichia coli</i> O157:H7 lipopolysaccharide in human serum. <i>Curr Microbiol.</i> 1991. Vol. 23, pp.189-195. | [doi: 23: 189-195. 10.1007/BF02092278] |
| 6 | | Bruyand M., Mariani-Kurkdjian P., Le Hello S., King L.A., Van Cauteren D., Lefevre S., Gouali M., Jourdan-da Silva N., Mailles A., Donguy M.P., Loukiadis E., Sergentet-Thevenot D., Loirat C., Bonacorsi S., Weill F.X., De Valk H.; Réseau Français Hospitalier de Surveillance du Shu Pédiatrique. Paediatric haemolytic uraemic syndrome related to Shiga toxin-producing <i>Escherichia coli</i> , an overview of 10 years of surveillance in France, 2007 to 2016. <i>Euro Surveill.</i> 2019. Vol. 24, no.8, pp.1800068. | URL: https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2019.24.8.1800068 (дата обращения: 30.03.2024). |

| | | | |
|---|--|--|---|
| 7 | | Cai K, Gao X, Li T, Wang Q, Hou X, Tu W, Xiao L, Tian M, Liu Y, Wang H: Enhanced immunogenicity of a novel Stx2Am-Stx1B fusion protein in a mice model of enterohemorrhagic <i>Escherichia coli</i> O157:H7 infection. <i>Vaccine</i> . 2010. Vol. 29, no. 5, pp. 946-952. | https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0264410X10016695?via%3Dihub [doi: 10.1016/j.vaccine.2010.11.035] |
| 8 | | Joseph A., Cointe A., Mariani Kurkdjian P., Rafat C., Hertig A. Shiga Toxin-Associated Hemolytic Uremic Syndrome: A Narrative Review. <i>Toxins (Basel)</i> . 2020. Vol. 12, no.2, pp. 67. | https://www.mdpi.com/2072-6651/12/2/67 [doi: 10.3390/toxins12020067] |
| 9 | | Karmali M.A., Mascarenhas M., Petric M., Dutil L., Rahn K., Ludwig K., Arbus G.S., Michel P., Sherman P.M., Wilson J., Johnson R., Kaper J.B.. Age-specific frequencies of antibodies to <i>Escherichia coli</i> verocytotoxins (Shiga toxins) 1 and 2 among urban and rural populations in southern Ontario. <i>J Infect Dis</i> . 2003, Vol. 188, no. 11, pp. 1724–1729. | https://academic.oup.com/jid/article/188/11/1724/863391?login=false [doi: 10.1086/379726] |

| | | | |
|----|--|--|---|
| 10 | | Majowicz S.E., Scallan E., Jones-Bitton A., Sargeant J.M., Stapleton J., Angulo F.J., Yeung D.H., Kirk M.D. Global incidence of human Shiga toxin-producing <i>Escherichia coli</i> infections and deaths: a systematic review and knowledge synthesis. <i>Foodborne Pathog Dis.</i> 2014. Vol. 11, no. 6, pp. 447 - 55. | https://www.liebertpub.com/doi/full/10.1089/fpd.2013.1704 [doi: 10.1089/fpd.2013.1704] |
| 11 | | O'Brien A.D., Tesh V.L., Donohue-Rolfe A., Jackson M.P., Olsnes S., Sandvig K., Lindberg A.A., Keusch G.T. Shiga toxin: biochemistry, genetics, mode of action, and role in pathogenesis. <i>Curr Top Microbiol Immunol.</i> 1992. Vol. 180, pp. 65-94 | https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-642-77238-2_4 [doi: 10.1007/978-3-642-77238-2_4] |