УДК: 616.33–002.8

ЮҚУМЛИ ЎТКИР ИЧАК КАСАЛЛИКЛАРИНИ ТАШҲИСЛАШДА ЗАМОНАВИЙ МОЛЕКУЛЯР-ГЕНЕТИК УСУЛЛАРНИНГ АҲАМИЯТИ ВА ҚЎЛЛАНИЛИШИ

Кудияров Исламбек Абдинасирович – мустақил изланувчи
Жумомурадов Собиржон Турсунбоевич – мустақил изланувчи
Тошкент давлат тиббиёт университети (Тошкент, Ўзбекистон)
Кудияров Сайыпбек Абдинасирович – мустақил изланувчи
Қорақалпоғистон тиббиёт институти (Нукус, Ўзбекистон)

Аннотация: *Ўткир ичак касалликлари (ЎИК) этиологиясини аниқлашда замонавий молекуляргенетик усулларнинг аҳамияти катта. ПЗР, multiple PCR, real-time PCR, digital PCR, MALDI-TOF массспектрометрия, шунингдек NGS ва WGS технологиялари микроорганизмларни юқори сезгирлик ва аниқлик билан идентификация қилиш имконини беради. Ушбу усуллар анъанавий бактериологик ва серологик методларга нисбатан тезроқ ва кенг қамровли таҳлилни таъминлайди, шу билан бирга антибиотикларга чидамлилик (AMR)ни ҳам аниқлайди. Республика ва хорижда олиб борилган тадқиқотлар ЎИКнинг кўпинча аралаш этиологияга эга эканлигини кўрсатмоқда, бу эса замонавий молекуляр ташхис усулларининг клиник амалиётда аҳамиятини янада оширади. Молекуляр усуллар патогенларни тез ва аниқ аниқлаш, самарали даволаш стратегиясини танлаш ва антибиотикларни нотўғри қўллашни камайтириш имконини беради.*

Калит сўзлар: *Ўткир ичак касалликлари, молекуляр-генетик усуллар, ПЗР, NGS, WGS, MALDI-TOF, патоген идентификацияси, антибиотик резистентлиги, клиник диагностика*

THE IMPORTANCE AND APPLICATION OF MODERN MOLECULAR GENETIC METHODS IN THE DIAGNOSIS OF ACUTE INFECTIOUS INTESTINAL DISEASES

Islambek Abdinasirovich Kudiyarov – independent researcher
Sobirjon Tursunboevich Jumomuradov – independent researcher
Tashkent State Medical University (Tashkent, Uzbekistan)
Sayipbek Abdinasirovich Kudiyarov – independent researcher
Karakalpakstan Medical Institute (Nukus, Uzbekistan)

Abstract: *Modern molecular genetic methods play a crucial role in determining the etiology of acute intestinal diseases (AID). Polymerase chain reaction (PCR), multiplex PCR, real-time PCR, digital PCR, MALDI-TOF mass spectrometry, as well as next-generation sequencing (NGS) and whole-genome sequencing (WGS), enable the identification of microorganisms with high sensitivity and accuracy. Compared to traditional bacteriological and serological techniques, these methods provide faster and more comprehensive diagnostics and detection of antimicrobial resistance (AMR). Studies conducted both nationally and internationally indicate that acute intestinal diseases frequently have a mixed etiology, underscoring the clinical significance of modern molecular diagnostic approaches. Molecular methods enable the rapid and precise detection of pathogens, support the selection of effective treatment strategies, and reduce the risk of inappropriate antibiotic use.*

Keywords: *Acute intestinal diseases, molecular genetic methods, PCR, NGS, WGS, MALDI-TOF, pathogen identification, antimicrobial resistance, clinical diagnostics.*

ЗНАЧЕНИЕ И ПРИМЕНЕНИЕ СОВРЕМЕННЫХ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ МЕТОДОВ В ДИАГНОСТИКЕ ОСТРЫХ ИНФЕКЦИОННЫХ КИШЕЧНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Кудияров Исламбек Абдинасирович – независимый исследователь
Жумомурадов Собиржон Турсунбоевич – независимый исследователь
Ташкентский государственный медицинский университет (Ташкент, Узбекистан)
Кудияров Сайыпбек Абдинасирович – независимый исследователь
Каракалпакстанский медицинский институт (Нукус, Узбекистан)

Аннотация: *Современные молекулярно-генетические методы играют важную роль в определении этиологии острых кишечных заболеваний (ОКЗ). PCR, множественный PCR, real-time PCR, цифровой PCR, MALDI-TOF масс-спектрометрия, а также технологии NGS и WGS позволяют идентифицировать микроорганизмы с высокой чувствительностью и точностью. Эти методы обеспечивают более быструю*

и комплексную диагностику по сравнению с традиционными бактериологическими и серологическими методами, а также позволяют выявлять устойчивость к антибиотикам (AMR). Исследования, проведённые в республике и за рубежом, показывают, что ОКЗ часто имеют смешанную этиологию, что подчёркивает клиническую значимость современных молекулярных диагностических методов. Молекулярные подходы позволяют быстро и точно выявлять патогены, выбирать эффективную стратегию лечения и снижать риск неправильного применения антибиотиков.

Ключевые слова: *Острые кишечные заболевания, молекулярно-генетические методы, PCR, NGS, WGS, MALDI-TOF, идентификация патогенов, антибиотикорезистентность, клиническая диагностика*

Кириш.

Сўнгги йилларда ўткир ичак касалликларининг этиологиясида, этиологияси аниқланмаган ЎИКлар сони, этиологияси аниқланганларга нисбатан юқори эканлиги кузатилмоқда (Асилова М.У., 2015). Бу ҳолат мавжуд ташхис усулларини янада такомиллаштириш зарурлигини кўрсатади. Анъанавий бактериологик усуллар билан замонавий молекуляр-генетик усулларни, хусусан, янги авлод секвенирлаш (NGS – Next Generation Sequencing) ва тўлиқ геном секвенирлаш (WGS – Whole Genome Sequencing) технологияларини солиштирганда, аниқлик ва самарадорлик кўрсаткичлари бўйича анъанавий усулларга нисбатан сезиларли даражада юқори бўлиб, NGS ва WGS технологиялари микроорганизмларни ҳамда уларнинг антибиотикларга чидамлилик (AMR) аниқлашда анча тез ва аниқ идентификация қилиш имконини беради. Шу билан бирга, ушбу технологиялар анъанавий усуллар орқали аниқлаб бўлмайдиган кенг қамровли геном маълумотларини ҳам тақдим этади [7,24].

Анъанавий ташхис усуллари кўпинча узоқ вақт талаб қилиши, юқори харажатлар ва ноаниқ натижалар билан чекланади [3]. Бу ҳолат айниқса паст ва ўрта даромадли мамлакатларда жамоат соғлиғини сақлаш тизимига катта муаммо бўлмоқда [10,29].

Микроорганизмларни аниқлаш клиник диагностикада, озиқ-овқат хавфсизлигида, атроф-муҳит мониторингида ва биомуҳофаза соҳаларида муҳим аҳамият касб этади. Микроорганизмларни аниқ ва тезкор тарзда идентификация қилиш ҳамда тавсифлаш касалликларни тўғри даволаш, инфекцияларни назорат қилиш ва жамоат саломатлигини кузатиш учун зарурдир [1]. Молекуляр-генетик тадқиқот усулларининг жадал ривожланиши натижасида баъзи ҳолатларда ЎИК (ўткир ичак касалликлари) бир вақтнинг ўзида бир нечта турдаги микроорганизмлар томонидан келиб чиқиши мумкинлиги аниқланди. Республика миқёсида олиб борилган тадқиқотлар маълумотларига кўра, ЎИКнинг аралаш (полимикроб) этиологияга эга ҳолатлари улуши 26% дан 32% гача етгани кузатилган. Халқаро маълумотлар ҳам бу тенденцияни тасдиқлайди — масалан, Руанда ва Танзанияда 5 ёшгача бўлган болаларнинг 65% да қўшма (аралаш) ичак инфекциялари аниқланган (Николаева С.В. ва ҳаммуаллифлар, 2019 йил).

Молекуляр ташхис инфратузилмасини Ҳиндистон мисолида кўрадиган бўлсак, молекуляр лабораториялар сони камлиги COVID-19 пандемияси даврида жиддий муаммо бўлган. 2020 йилда ПЗР синовини ўтказа олган лабораториялар сони 52 тани ташкил этган бўлса, 2022 йилга келиб 3382 тага етган [26]. Бу ҳолат молекуляр ташхис инфратузилмасини ривожлантириш заруратини кўрсатади.

Замонавий молекуляр-генетик усулларнинг тиббиётдаги аҳамияти

1990-йиллардан бошлаб, бактерияларга хос 16S рибосомал РНК (16S rRNA) ва уни кодловчи генларнинг тўғридан-тўғри секвенслаш усули ичак бактерияларини ўрганишда қўлланила бошланди. Бу усул ёрдамида илгари бактериялогик (культура) усули билан етиштириб бўлмайдиган бактерия турларини аниқлаш имкони яратилди [8,12].

Сўнгги пайтларда кўплаб микробиологик лабораториялар микроорганизмларни аниқлашда полимераз занжир реакциясидан (ПЗР) фойдаланишни йўлга қўймоқда. Multiple PCR бир вақтнинг ўзида бир нечта турли ДНК фрагментларини кўпайтириш имконини беради (худди кўплаб алоҳида ПЗР реакцияларини бир реакцияда ўтказгандек қилиб), бу эса реагентлар ва вақтни тежаш имконини яратади [6].

Молекуляр усуллар, айниқса ПЗР, молекуляр биология соҳасини тубдан ўзгартирди, чунки улар ДНКнинг муайян участкаларини тез ва аниқ кўпайтириш имконини берди [14,20,21]. ПЗР усули синтетик қисқа ДНК бўлаклари — праймерлар ёрдамида геномнинг муайян сегментига йўналтирилади ва такрорий ДНК синтези циклларини орқали ушбу сегментни кўпайтиришни таъминлайди.

Бу усул 1983 йилда америкалик биокимёгар Кэри Муллис (Kary Mullis) томонидан ишлаб чиқилган бўлиб, ҳозирги кунда молекуляр биология ва биотехнологияда ажралмас воситага айланган.

ПЗР усули ҳозир турли соҳаларда кенг қўлланилмоқда:

- генетик мутацияларни аниқлаш;
- ген ифодаланишини (экспрессиясини) кузатиш;
- касалликларни келтириб чиқарувчи генларни идентификация қилиш;
- генетик бармоқ изи (fingerprinting) ва криминал таҳлил;

• ген хариталаш, филогенетик таҳлил ва ген экспрессиясини ўрганиш.

ПЗРнинг юқори сезгирлиги жуда кичик ДНК миқдорларини ҳам кўпайтириш имконини беради, шу боис у суд-тиббий экспертиза, трансген тадқиқотлар ва тиббий диагностикада муҳим аҳамиятга эга [20].

Кейинги йилларда ПЗР асосида бир қатор янги замонавий усуллар ишлаб чиқилган бўлиб, улар қаторига real-time ПЗР (ҳақиқий вақтда PCR), digital ПЗР (рақамли PCR), inverse ПЗР (инверт PCR) ва MALDI-TOF масс-спектрометриялар киради. Ушбу усуллар ҳар бири муайян афзалликларга эга бўлиб, ДНК кетма-кетлигини таҳлил қилиш имкониятларини янада аниқ ва самарали даражага етказди [2,30].

MALDI-TOF масс-спектрометрия

MALDI-TOF MS (Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry) микроорганизмларнинг оқсил профилини таҳлил қилиш орқали уларни аниқлайди. Бу усул тезкор, аниқ ва арзон бўлиб, антибиотик резистентлик профилларини ҳам таҳлил қилиш имконини беради. Shuningdek, MALDI-IMS орқали тўқима кесмаларида патогенларнинг локализациясини ҳам аниқлаш мумкин [15,17,18,19].

NGS ва WGS технологиялари

NGS ва WGS технологиялари микроорганизмларнинг ДНК ва РНКсини тез ва аниқ секвенирлаш орқали патогенларнинг хилма-хиллиги ва мутацияларини ўрганиш имконини беради. Бу технология ДНК ва РНКни тез ва аниқ секвенирлашни таъминлайди, генетик таҳлилни янги босқичга олиб чиқди. NGS технологияси бир вақтнинг ўзида юзлаб ёки минглаб генларни, ҳатто бутун геномни ҳам тезкор равишда секвенирлай олади.

Бу усул анъанавий Сангер секвенирлаш усулига нисбатан сезиларли устунликларга эга. NGS клиник амалиётда кенг қўлланади — касаллик ташхиси ва прогнозидан тортиб, индивидуал терапияни танлаш ва бемор кузатувигача бўлган соҳаларда. Шу сабабли, у шахсийлаштирилган (precision) тиббиётда муҳим восита ҳисобланади.

Бу технологиянинг масштабланувчанлиги, тезкорлиги ва кам учрайдиган вариантларни аниқлаш қобилияти генетик таҳлилни тубдан янгилади. Геномика ва клиник тадқиқотлар, репродуктив саломатлик ҳамда бошқа фан соҳаларида кенг қўлланмоқда [4,5,22,28].

NGS маълумотларини қайта ишлаш одатда уч босқичда амалга оширилади:

1.Бирламчи таҳлил (primary analysis);

2.Иккиламчи таҳлил (secondary analysis);

3.Учинчи босқич — натижаларни талқин қилиш (tertiary analysis).

Бу жараёнларда биоинформатика мутахассислари марказий рол ўйнайди, чунки айнан улар натижаларни таҳлил қилади ва маълумотлардан клиник ва илмий жиҳатдан фойдали хулосалар чиқаради [9,13].

Замонавий молекуляр-генетик усулларнинг ЎИК ташҳислашдаги ўрни.

Клиник лабораторияларда илғор молекуляр диагностика усулларининг келажакда қўлланилиши бактерияли, паразитар ва вирусли агентларни касалликнинг дастлабки босқичларида аниқлаш имкониятини сезиларли даражада оширади (Turgeon D. K., Fritsche, T. R., 2001). Бу усулнинг аниқлиги, юқори сезгирлиги ва ўзига хослиги ҳамда натижаларни тез олиш имконияти орқали назарий жиҳатдан ўз вақтида ва аниқ йўналтирилган даволаш чораларини қўллашни таъминлайди.

Шу вақтгача кўплаб даволовчи шифокорлар беморларни даволашда асосан анъанавий усулларининг турли вариантларига (бактериологик, серологик ва бошқа), тўғридан-тўғри текширувларга (жумладан, ёруғлик микроскопия ва электрон микроскопия) ҳамда мавжуд иммунологик таҳлил усулларига таяниб келган. Харажатлар ва юқумли ЎИК учун жавобгар бўлган инфекцион агентлар сонининг ортиб боришини ҳисобга олган ҳолда, амалиётчи мутахассисларга диарея касалликларини даволашда баъзи қийинчиликлар туғилди [25].

Ливанда ўтказилган тадқиқотда гастроинтестинал инфекцияларни ташҳислашда мультиплекс реал-тайм ПЗР тестларини жорий этиш кўплаб патогенларни аниқлаш самарадорлигини оширди ва мавжуд бўшлиқларни аниқлади. Умуман олганда, тадқиқотга жалб қилинган 271 нафар беморнинг 71%ида (N=192) энтеропатогенлар аниқланган. Улар орасида бактериялар 48% (N=130), паразитлар 12% (N=32) ва вируслар 11% (N=30) ҳолатларда қайд этилган. Барча ёш гуруҳларида энг кўп тарқалган инфекциялар бактерияли турда бўлган. Жами 79 та намуна (29%)да патогенлар аниқланмаган [16].

Ҳозирда кўплаб хорижий давлатларда ЎИКга ташҳис қўйишда ПЗР усули қўлланилади. Бошқа давлатларда бўлгани каби, Ўзбекистонда ҳам баъзи жойларда (Тошкент шаҳри ва бошқа айрим вилоятларда) молекуляр-генетик текшириш усулларидан фойдаланилмоқда. Жумладан, Асилова М.У. (Тошкент ш., 2015) ва бошқа ҳаммуаллифлар томонидан олиб борилган ПЗР текширувларда 753 та намунадан 392 та (52,0%) ҳолатда ротавирус, аденовирус ва астровируслар аниқланган, 159 та (21,0%) намунада эса бактерияли патогенлар қайд этилган. Эралиев У.Э. (Тошкент ш., 2016) нинг текширув хулосаларига кўра, 1 ойдан 5 ёшгача бўлган болалар орасидаги ўткир ичак инфекциялари ҳолатларининг кўпчилигида (76,4%) этиологик омил сифатида вируслар қайд этилган, бактериявий патогенлар эса анча кам — 23,6% ҳолатларда учраган.

Шунингдек, Вафокулова Н.Х. ва бошқа ҳаммуаллифларнинг (Самарканд вил., 2025) маълумотларига кўра, ЎИКда микст ичак инфекциялари улуши 26–32% ни ташкил қилган. Раимкулов Р.Г. (Бухоро вил., 2024) келтирган маълумотларда ЎИКни ПЗР усулида текширилганда 40,6% да ротавирус ва 20,6% да асосан норовирус, бактериялардан кампилобактериоз (4,3%) ва ЎИКнинг аралаш шакллари (13,1%) аниқланган. Юртимизда ПЗР усулларини қўллаш ЎИКга чалинган беморларни аниқ ташҳислаш ва самарали даволаш тактикасида жуда муҳим аҳамият касб этди.

ЎИКни даволашда молекуляр диагностик усулларининг аҳамияти

ЎИКни даволаш бўйича адабиётларни ўрганганимизда, турли мамлакатларда олиб борилган тадқиқотлар антибиотикларнинг ортиқча қўлланилиш даражаси юқори эканлигини кўрсатади. Масалан, Эфиопия ва Ҳиндистондаги болалар амбулатор клиникаларида ҳар иккинчи диарея ҳолатида антибиотиклар таъинланган, аммо лаборатор таҳлилларда уларнинг 70–80% вирусли этиологияга эга экани аниқланган (PLOS ONE, 2022; BMC Infectious Diseases, 2023). Бу каби даволаш усули Ўрта Осиё давлатларида ҳам кузатилади.

Ўткир ичак инфекцияларининг 60–70% ҳолатлари вируслар (ротавирус, норовирус, астровирус ва аденовируслар) билан боғлиқ бўлиб, бу ҳолларда антибиотик терапия самарасиз ҳисобланади (Troeger et al., Lancet Infect Dis., 2023). Фақатгина айрим ҳолатларда — Shigella spp., Salmonella typhi, Vibrio cholerae, Campylobacter jejuni ёки инвазив Escherichia coli (EHEC, EIEC) билан боғлиқ диареяларда антибиотиклар клиник фойда беради.

ЎИКни даволашда антибиотикларни нотўғри ва асоссиз қўлланилиши кенг тарқалган бўлиб, бу нафақат бемор саломатлигига, балки антибиотикларга қаршилик (AMR) муаммосининг ўсишига ҳам сабаб бўлмоқда (WHO, 2024; O'Brien et al., 2023). Агар клиник амалиётда тезкор лаборатор ва молекуляр диагностика усуллари жорий этиладиган бўлса, антибиотикларни асоссиз қўллаш ҳолатларини сезиларли даражада камайтириш мумкин [11,23,27].

Хулоса: Ўткир ичак касалликларини ташҳислашда ва касаллик кўзғотувчиларини аниқлашда замонавий молекуляр-генетик технологиялар — ПЗР, multiple PCR, real-time PCR, digital PCR, MALDI-TOF, NGS ва WGS усуллар — анъанавий усулларга нисбатан сезиларли даражада юқори аниқлик ва тезкорликни таъминлайди. Бу усуллар микроорганизмларнинг аралаш этиологиясини аниқлаш, антибиотикларга нисбатан чидамлиликни баҳолаш ва самарали даволаш тактикасини қўллаш имконини беради. Сўнги йилларда Республикамизда ва бир қатор хорижий давлатларда олиб борилган илмий тадқиқот натижаларига кўра, ЎИКнинг этиологиясида асосан вирусли ва аралаш (вирус+бактерия) этиологияли эканлигини тасдиқлади, бу эса касалликни даволашда антибиотикларни нотўғри қўллашни камайтириш ва жамоат саломатлигини сақлашда муҳим аҳамият касб этади. Шунингдек, замонавий молекуляр усуллар клиник амалиётда тез ва аниқ қарорлар қабул қилишга имконият яратади.

АДАБИЁТЛАР

1. Ahmed A, Rushworth JV, Hirst NA, Millner PA: Biosensors for whole-cell bacterial detection. Clin Microbiol Rev. 2014, 27:631-46. 10.1128/CMR.00120-13
2. Amjad M. (2020). An Overview of the Molecular Methods in the Diagnosis of Gastrointestinal Infectious Diseases. *International journal of microbiology*, *2020*, 8135724. https://doi.org/10.1155/2020/8135724
3. Babady E, Mead P. Molecular Diagnosis of Gastrointestinal Infections. In: Eslick GD. Gastrointestinal Diseases and Their Associated Infections. Elsevier. 2019:167 185. doi:10.1016/B978-0-323-54843-4.00013-1
4. Cunningham SA, Sloan LM, Nyre LM, Vetter EA, Mandrekar J, Patel R. Three-hour molecular detection of Campylobacter, Salmonella, Yersinia, and Shigella species in feces with accuracy as high as that of culture. J Clin Microbiol 2010; 48:2929–33
5. Coupland LJ, McElarney I, Meader E, Cowley K, Alcock L, Naunton J, et al. Simultaneous detection of viral and bacterial enteric pathogens using the Seeplex® Diarrhoea ACE detection system. Epidemiol Infect 2012; 5:1–11.
6. Ena, J., Afonso-Carrillo, R. G., Bou-Collado, M., Galian-Nicolas, V., Reyes-Jara, M. D., Martínez-Peinado, C., Gómez-Alonso, B., & Arjona-Zaragozi, F. (2019). Epidemiology of severe acute diarrhea in patients requiring hospital admission. *Journal of Emergency Medicine*, *57*(3), 290–298. https: //doi. org/10.1016/j. jemermed.2019.06.009
7. Figdor D, Gulabivala K: Survival against the odds: microbiology of root canals associated with posttreatment disease. Endod Top. 2008, 18:62-77. 10.1111/j.1601-1546.2011. 00259
8. Front. Med., 07 February 2023. Sec. Gastroenterology. Volume 9 – 2022. https:// doi. org/ 10.3389/fmed.2022.935676
9. Jiménez-Jiménez, A. B., Galán-Sánchez, F., Hortelano, M. G., Fumadó, V., Salar-Vidal, L., Ramos-Amador, J. T., & Menasalvas-Ruiz, A. I. (2025). Acute infectious gastroenteritis in childhood: the role of rapid multiplex molecular syndromic panels in diagnosis and clinical management. Gastroenteritis infecciosa aguda en la infancia: el papel de los paneles moleculares sindrómicos múltiples rápidos en el diagnóstico y manejo clínico. *Revista espanola de*

quimioterapia: publicacion oficial de la Sociedad Espanola de Quimioterapia, *38*(4), 258–277. https: //doi.org/10.37201/req/026.2025

10. Keddy KH, Saha S, Kariuki S, et al. Using big data and mobile health to manage diarrheal disease in children in low-income and middle-income countries: societal barriers and ethical implications. Lancet Infect Dis 2022;22: e130–e142. doi:10.1016/ S1473-3099(21)00585-5

11. Kotloff K. L. The Burden and Etiology of Diarrheal Illness in Developing Countries // Pediatr Clin North Am. 2017; 64 (4): 799–814

12. López Muñoz, D. F., Giraldo Ospina, B., & Beltrán Angarita, L. (2024). Efficacy of Molecular Methods for the Diagnosis of Enteropathogenic Microorganisms Associated with Diarrhea: A Systematic Review. *Journal of gastrointestinal and liver diseases: JGLD*, *33*(4), 552–562. https://doi.org/10.15403/jgld-5653

13. Luthra R, Chen H, Roy-Chowdhuri S, Singh RR: Next-generation sequencing in clinical molecular diagnostics of cancer: advantages and challenges. Cancers (Basel). 2015, 7:2023-36

14. Malik, Y. S., Verma, A. K., Kumar, N., Touil, N., Karthik, K., Tiwari, R., Bora, D. P., Dhama, K., Ghosh, S., Hemida, M. G., Abdel-Moneim, A. S., Bányai, K., Vlasova, A. N., Kobayashi, N., & Singh, R. K. (2019). Advances in Diagnostic Approaches for Viral Etiologies of Diarrhea: From the Lab to the Field. *Frontiers in microbiology*, *10*, 1957. https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01957

15. MALDI-TOF mass spectrometry. (2023). Accessed: May 2, 2024: https: //www. creativeproteomics.com/technology/maldi-tof-mass-spectrometry.htm.

16. Mokhtar, J., Mallah, H., Mardirossian, J.M. *et al.* Enhancing enteric pathogen detection: implementation and impact of multiplex PCR for improved diagnosis and surveillance. *BMC Infect Dis* 24, 171 (2024). https://doi.org/10.1186/s12879-024-09047-z

17. McAuliffe, G. N., Anderson, T. P., Stevens, M., Adams, J., Coleman, R., Mahagamasekera, P., Young, S., Henderson, T., Hofmann, M., Jennings, L. C., & Murdoch, D. R. (2013). Systematic application of multiplex PCR enhances the detection of bacteria, parasites, and viruses in stool samples. *The Journal of infection*, *67*(2), 122–129. https://doi.org/10.1016/j.jinf.2013.04.009

18. Nenoff P, Erhard M, Simon JC, Muylowa GK, Herrmann J, Rataj W, Gräser Y: MALDI-TOF mass spectrometry - a rapid method for the identification of dermatophyte species. Med Mycol. 2013, 51:17-24. 10.3109/13693786.2012.685186

19. Onori, M., Coltella, L., Mancinelli, L., Argentieri, M., Menichella, D., Villani, A., Grandin, A., Valentini, D., Raponi, M., & Russo, C. (2014). Evaluation of a multiplex PCR assay for simultaneous detection of bacterial and viral enteropathogens in stool samples of paediatric patients. *Diagnostic microbiology and infectious disease*, *79*(2), 149–154. https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2014.02.004

20. PCR: Polymerase chain reaction. (2023). Accessed: April 4, 2024: https: //byjus. com/ biology/pcr.

21. PCR-based techniques articles from across Nature Portfolio. (2024). Accessed: April 4, 2024: https://www.nature.com/subjects/pcr-based-techniques

22. Qin D: Next-generation sequencing and its clinical application. Cancer Biol Med. 2019, 16:4-10

23. Sergeeva A.V., Poslova L.Y., Kovalishena O.V., Blagonravova A.S., Epiphania N.V., Sashina T.A., Morozova O.V., Novikova N.A. Viral etiology of acute intestinal infections: molecular monitoring in children's hospital // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2015, vol. 5, no. 3, pp. 243–252. doi: 10.15789/2220-7619-2015-3-243-252

24. Strengths and weaknesses of Indian culture. (2021). Accessed: May 2, 2024: https://aishwaryasandeep.in/strengths-and-weaknesses-of-indian-culture/.

25. Turgeon, D. K., & Fritsche, T. R. (2001). Laboratory approaches to infectious diarrhea. *Gastroenterology clinics of North America*, *30*(3), 693–707. https://doi.org/10.1016/s0889-8553(05)70206-5

26. Vidyarthi AJ, Das A, Gupta A. Revisiting conventional microbiology techniques in the era of molecular testing. Curr Med Res Pract 2022; 12:27 4-9.

27. Wang, T., Wang, G., Shan, CX. *et al.* Comparative study on epidemiological and etiological characteristics of patients with acute diarrhea with febrile or non-febrile symptoms in China. *Infect Dis Poverty* 12, 62 (2023). https://doi.org/10.1186/s40249-023-01108-w

28. What is next-generation sequencing (NGS)? (2023). Accessed: May 2, 2024: https://www.thermofisher.com/in/en/home/life-science/sequencing/sequencing-learning-center/nextgeneration-sequencing

29. Zhou HL, Bessey T, Wang SM, Mo ZJ, et al. Burden and etiology of moderate and severe diarrhea in children less than 5 years of age living in north and south of China: Prospective, population-based surveillance. Gut Pathog 2021; 13:33. doi: 10.1186/s13099-021-00428-2

30. Zhu H, Zhang H, Xu Y, Laššáková S, Korabečná M, Neužil P: PCR past, present and future. Biotechniques. 2020, 69:317-25. 10.2144/btn-2020-0057