

БИОХИМИЯ

УДК 579

DOI: 10.26456/vtbio393

АНАЛИЗ ЭФФЕКТИВНОСТИ АВТОМАТИЗИРОВАННЫХ И РУТИННЫХ МЕТОДОВ ИДЕНТИФИКАЦИИ МИКРООРГАНИЗМОВ

А.А. Акендинова, А.Н. Панкрушина

Тверской государственный университет, Тверь

Проводилась сравнительная оценка возможности идентификации некоторых видов определяемых условно-патогенных бактерий в конъюнктиве глаза, моче и ректальном мазке с применением масс-спектрометрического и рутинного методов, а также автоматизированного метода идентификации на бактериологическом анализаторе. Анализ эффективности сравниваемых методов показал, что для современной клинико-бактериологической лаборатории преимущество следует отдать механизированным методам. Однако, классические методы также необходимо применять в сложных ситуациях для подтверждения или корректировки результата исследования

Ключевые слова: *масс-спектральный анализ, колориметрический анализ, бактериологический анализатор, культура микроорганизмов, биоматериал.*

Введение. Классическая методика диагностики заболеваний имеет большие недостатки и ограничения. Микробиологические исследования лежат в основе клинической микробиологии. основополагающими задачами для них являются выявление и идентификация различных возбудителей. Точная постановка диагноза и быстрая выдача результата напрямую зависит от быстрой идентификации патогенных микроорганизмов (МО) (Миронова, 2010).

«В концепции развития службы клинической лабораторной диагностики РФ говорится о том, что микробиологические исследования должны иметь приоритетное развитие среди других видов лабораторной диагностики. Обусловлено это массовым распространением инфекционных заболеваний, поражающих всё население, бесконтрольностью применения антибиотиков и антисептиков, востребованностью этого вида лабораторной диагностики практически при всех видах медицинской помощи» (Концепция развития службы клинической лабораторной диагностики Российской Федерации на 2003 - 2010 гг.).

Рост числа инфекционных бактериальных заболеваний, распространение внутрибольничных инфекций, широкое применение антибиотиков, изменения микрофлоры требуют нового подхода к организации методов современной диагностики (Акендинова, 2024).

С внедрением автоматических анализаторов в лабораторную практику, рутинные методы исследования отходят постепенно на второй план (Crochatto A., 2012, Mimica M.J., 2013).

В современной клинико-бактериологической лаборатории преимущественно следует выполнять исследования с помощью механизированных методов. Однако, классические методы также необходимо применять в сложных ситуациях для подтверждения или коррективы результата исследования (Акендинова, 2024).

Методика. Методика выполнения экспериментов заключалась в проведении анализов идентификации микроорганизма вначале рутинным методом, а потом с помощью медицинского оборудования. Для проведения одного эксперимента разными методами биоматериал использовался одного человека. Пошаговая схема выполнения исследования представлена на рисунке 1.

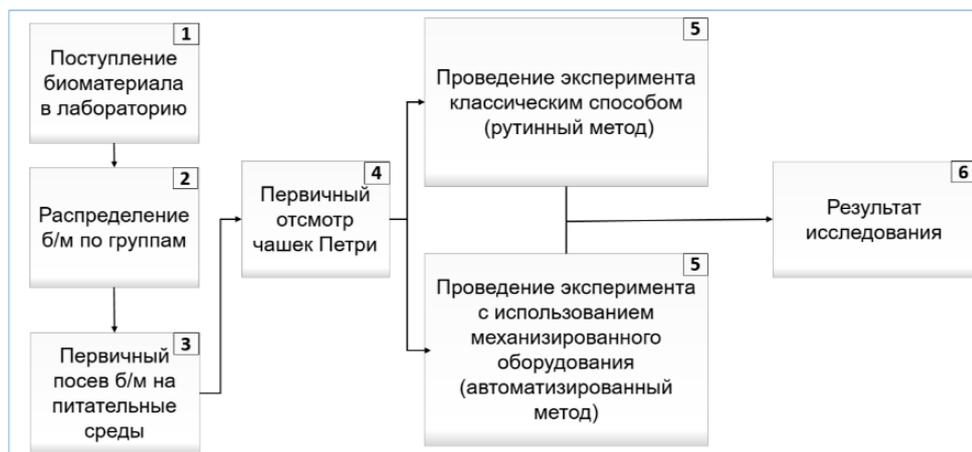


Рис. 1. Общая схема идентификации МО (разработано автором)

В работе были исследованы образцы биоматериалов 11 пациентов. Биоматериал пациентов, при поступлении в лабораторию распределялся по группам в зависимости от выбора исследования и типу материала (табл. 1).

Таблица 1

Распределение по группам используемого биоматериала

	Биоматериал	Исследование	Группа
1.	Отделяемое конъюнктивы глаза	Микробиологическое (культуральное) исследование отделяемого конъюнктивы на аэробные и факультативно-анаэробные условно-патогенные микроорганизмы.	1
2.			
3.			
4.	Моча	Микробиологическое (культуральное) исследование мочи на аэробные и факультативно-анаэробные условно-патогенные микроорганизмы	2
5.			
6.			
7.	Ректальный мазок	Микробиологическое (культуральное) исследование ректального мазка на микроорганизмы рода сальмонелла (<i>Salmonella spp</i>)	3.1
8.			
9.		Микробиологическое (культуральное) исследование ректального мазка на возбудителя дизентерии (<i>Shigella spp.</i>)	3.2
10.			
11.			

Бактериологические посева проведены с использованием широкого перечня питательных сред для культивирования МО: агар Сальмонелла Шигелла, бульон селенит-цистиновый, агар гектоеновый для энтеробактерий, агар хромогенный для сальмонелл, среда Олькиницкого, кровяной агар, агар маннит-солевой, желчно-солевой, среда Эндо, агар урисилек, агар селективный для энтерококков, также для идентификации МО применялись различные тесты: системы индикаторные бумажные для идентификации МО, тест на плазмокоагулазу для идентификации бактерий, каталазный тест для определения каталазноположительных и каталазноотрицательных бактерий, PYRA-ТЕСТ, тест на реакцию агглютинации, приготовление мазка и окраска по Грамму. Идентификация МО проведена методом MALDI-TOF масс-спектрометрии и бактериологическим анализатором VITEK 2 Compact (рис. 2) (Акендинова, 2024).



Рис. 2. Справа - VITEK 2 Compact слева- Масс-спектрометр VITEK MS

Результаты и обсуждение. В ходе проведения ряда лабораторных экспериментов было выявлено, что в биоматериале пациентов присутствуют такие микроорганизмы как: *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, *Salmonella enterica*, *Salmonella enteritidis*, *Citrobacter youngae*, *Shigella flexneri*, *Shigella sonnei*, данные микроорганизмы были установлены в результате проведения экспериментов автоматизированным и рутинным методом идентификации.

Общая сравнительная таблица по выдаче результатов лечащему врачу от момента поступления биоматериала до момента отправки результатов в больницу (табл. 2).

Таблица 2

Общая сравнительная таблица по выдаче результатов
(учёт времени)

№	Биоматериал	Группа	Дата поступления биоматериала	Дата выдачи результата Механизированным методом	Дата выдачи результата Рутинным методом
1	Отделяемое конъюнктивы глаза	1	13.09.23	14.09.23	16.09.23
2			13.09.23	14.09.23	16.09.23
3			13.09.23	14.09.23	16.09.23
4	Моча	2	03.09.23	04.09.23	06.09.23
5			03.09.23	04.09.23	06.09.23
6			03.09.23	04.09.23	06.09.23
7	Ректальный мазок	3.1	12.09.23	13.09.23	15.09.23
8			12.09.23	13.09.23	15.09.23
9			12.09.23	13.09.23	15.09.23
10		3.2	13.09.23	14.09.23	16.09.23
11			13.09.23	14.09.23	16.09.23

На рисунке 3 представлено общее время поведения анализа при использовании разных методов. Как видно из данной диаграммы использование механизированных методов значительно сокращает время получения результата.

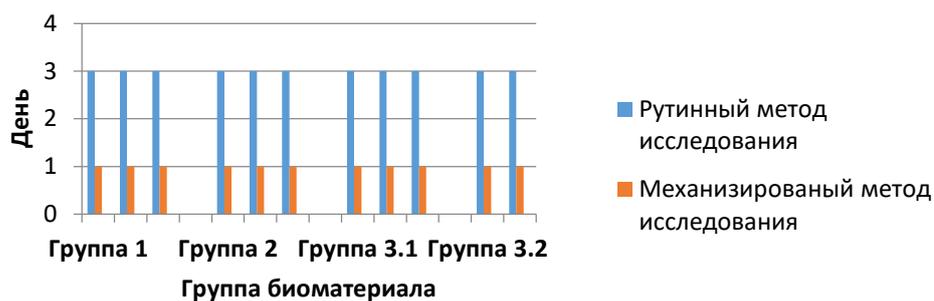


Рис. 3. Общее время поведения анализа при использовании разных методов

Из данных таблицы 3 можно заключить, что расхождение результатов при применении механизированных и рутинных методов исследований – отсутствует.

Таблица 3

Общая сравнительная таблица по выдаче результатов (сопоставимость результатов)

№	Биоматериал	Группа	Результат полученный механизированным методом	Результат полученный рутинным методом
1	Отделяемое конъюнктивы глаза	Группа 1.	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
2			<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
3			<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
4	Моча	Группа 2.	<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Enterococcus faecium</i>
5			<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Enterococcus faecium</i>
6			<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>
7	Ректальный мазок	Группа 3.1	<i>Salmonella enterica</i>	<i>Salmonella enterica</i>
8			<i>Salmonella enteritidis</i>	<i>Salmonella enteritidis</i>
9			<i>Citrobacter youngae</i>	<i>Citrobacter spp</i>
10		Группа 3.2	<i>Shigella sonnei</i>	<i>Shigella sonnei</i>
11			<i>Shigella flexneri</i>	<i>Shigella flexneri</i>

Во всех исследованиях, представленных в данной работе данные полученные разными методами полностью совпадают, данные отображены на рисунке 4.



Рис. 4. Общая сравнительная таблица по выдаче результатов (сопоставимость результатов при использовании разных методов)

Заключение. Масс-спектральный анализ позволяет идентифицировать МО в короткие сроки, заключения пациентам выдавались на второй день после поступления биоматериала в лабораторию, а также обладает широким спектром определяемых этим способом родов и видов микроорганизмов. Вместе с тем, в редких случаях из-за схожести некоторых групп МО, возможна выдача ошибочного результата. Принцип колориметрического анализа схож для рутинного и автоматизированного метода. Однако автоматизированный метод позволяет исключить фактор личного восприятия, а также обеспечивает максимально упрощенный процесс проведения анализа, его эргономичность, автономность и эффективность, быструю выдачу результатов. Автоматизированный метод колориметрического анализа применим в основном для определения клинически значимых МО.

При определении патогена во всех исследуемых биоматериалах раньше (на вторые сутки) выдавались результаты, получаемые автоматизированными методами. При использовании рутинных методов результаты выходили только на четвертые сутки после поступления биоматериала в клиническую лабораторию. При этом результаты, полученные разными методами, несмотря на временной промежуток и особенности применяемых методик, идентичны.

На основании нашего исследования можно сделать вывод, что для современной клиничко-бактериологической лаборатории преимущество следует отдать механизированным методам. Однако, классические методы также необходимо применять в сложных ситуациях для подтверждения или корректировки результатов.

Список литературы

- Акенинова А.А.* 2024. Об оснащение бактериологических лабораторий автоматическими анализаторами»: сборник статей международной научно-практической конференции «актуальные проблемы научного и технологического обеспечения инновационного развития» (15 апреля 2024 г. | г. Таганрог). Уфа: Аэтерна.
- Концепция развития службы клинической лабораторной диагностики Российской Федерации на 2003-2010 гг.* // ИС «Юрист». [Электронный ресурс]. – Режим доступа: https://online.zakon.kz/Document/?doc_id=38310772
- Миринова А.В.* 2019. Инновационные технологии в бактериологии как критерий качества медицинской помощи // Новые задачи современной медицины: Материалы VI Международной научной конференции. Казань: Молодой ученый. С. 39-41.
- Croxatto A., Prod'hom G., Greub G.* 2012. Applications of MALDI-TOF mass spectrometry in clinical diagnostic microbiology // FEMS Microbiol. Rev. 2012. Vol. 36. P. 380–407.
- Mimica M.J., Valle Martino M.D., Pasternak J.* 2013. MALDI-TOF MS in the clinical microbiology laboratory // J. Bras. Patol. Med. Lab. Vol. 49. № 4. P. 25-259.

ANALYSIS OF THE EFFICACY OF AUTOMATED AND CONVENTIONAL METHODS FOR MICROORGANISM IDENTIFICATION

A.A. Akeninova, A.N. Pankrushina

Tver State University, Tver

A comparative evaluation was conducted to assess the identification capabilities of selected species of detectable opportunistic bacteria isolated from the ocular conjunctiva, urine, and rectal swabs using mass spectrometric techniques, conventional methods, and an automated identification approach via a bacteriological analyzer. The analysis of the efficacy of the compared methods revealed that modern clinical and bacteriological laboratories should prioritize automated methodologies. Nevertheless, conventional techniques remain essential in complex cases to verify or refine the diagnostic results.

Keywords: *mass spectrometry, colorimetric analysis, bacteriological analyzer, microbial culture, biological samples.*

Об авторах:

АКЕНДИНОВА Анастасия Алексеевна – аспирант 1 года обучения направления 03.01.04 Биохимия, ФГБОУ ВО «Тверской государственный университет», 170100, Тверь, ул. Желябова, д. 33, e-mail: aaakendinova@bk.ru

ПАНКРУШИНА Алла Николаевна – доктор биологических наук, профессор кафедры зоологии и физиологии, ФГБОУ ВО «Тверской государственный университет», 170100, Тверь, ул. Желябова, д. 33, e-mail: Alla.Pankrushina@mail.ru.

Акендинова А.А. Анализ эффективности автоматизированных и рутинных методов идентификации микроорганизмов / А.А. Акендинова, А.Н. Панкрушина // Вестн. ТвГУ. Сер. Биология и экология. 2025. № 1(77). С. 14-21.

Дата поступления рукописи в редакцию: 17.01.25

Дата подписания рукописи в печать: 25.03.25