

РАЗДЕЛ 1

РАЗРАБОТКА НОВЫХ МЕТОДОВ ДИАГНОСТИКИ И ЛЕЧЕНИЯ

PART 1

NEW METHODS OF DIAGNOSTICS AND TREATMENT

© Л.Г. Баженов, 2004.
УДК 576.8.078:616.8-003.233

Л.Г. Баженов

КРИСТАЛЛОГРАФИЧЕСКИЙ МЕТОД ИЗУЧЕНИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ И ЕГО ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПРИ ИДЕНТИФИКАЦИИ ГРИБОВ РОДА CANDIDA

*Республиканский специализированный центр хирургии им. ак. В. Вахидова
Ташкент, Республика Узбекистан*

Аннотация: Разработан доступный и экономичный метод идентификации микроорганизмов, позволяющий быстро и с достаточной степенью достоверности распознавать микроорганизмы, хранить биологическую информацию о них и передавать ее по электронно-информационным каналам. С его помощью проведена идентификация 21 штамма грибов рода *Candida*: *C.tropicalis* (10), *C.krusei* и *C.stellatoidea* (по 4), *Candida albicans* (3). Все штаммы перечисленных видов образовывали характерные для них кристаллограммы, дающие возможность четко их дифференцировать. Результаты, полученные с помощью кристаллографического и традиционного методов, были идентичны.

Ключевые слова: Микроорганизмы, идентификация, кристаллографический метод, грибы рода *Candida*

В последние годы разрабатываются все более совершенные методы идентификации микроорганизмов. Однако, наряду с повышением их точности, возрастает сложность и стоимость исследования. Имеющие наибольшее распространение биохимические методы идентификации достаточно трудоемки, а из-за высокой варибельности свойств у многих микроорганизмов, получаемые результаты не всегда достоверны. Поэтому нами была предпринята попытка создания принципиально нового метода идентификации, отличающегося доступностью и достаточной точностью. При этом мы обратили внимание на метод кристаллических налетов (И.Л.Теодор с соавт., 1985), используемый как вспомогательный диагностический критерий при определении характера патологического процесса при заболеваниях желудка и ринитах.

Наши предварительные исследования показали невозможность применения указанного метода для микробиологических целей в неизменном виде. Наша модификация метода (Л.Г.Баженов, Патент N1231 Республики Узбекистан) заключа-

ется в том, что микробную взвесь исследуемого штамма принудительно высушивают в эксикаторе. Затем полученное кристаллическое изображение (кристаллограмму) изучают под стереоскопическим микроскопом и сравнивают с кристаллограммами известных микроорганизмов (референс-культуры).

Возможности разработанного метода изучены на примере идентификации грибов рода *Candida* (ГРС). Этот выбор обусловлен тем, что в последние годы наблюдается все возрастающее значение ГРС в развитии и поддержании различных патологических состояний, вместе с тем их идентификация недостаточно разработана и в практических лабораториях представляет серьезные затруднения.

Изучению подвергнут 21 штамм ГРС, выделенных из желудочного сока больных с гастродуоденальными заболеваниями. Они в соответствии с культуральными и физиолого-биохимическими признаками были отнесены к следующим видам: *C.tropicalis* (10 штаммов), *C.krusei* и *C.stellatoidea* (по 4), *Candida albicans* (3).

Кристаллограммы этих культур имели своеобразную картину в виде комплекса кристаллов, от углов которых расходились осевые линии с боковыми ответвлениями, характерные для каждого вида. Так, *S. albicans* образовывали кристаллы правильной формы, трех- и четырехгранные, с равными гранями. Ответвлений от кристаллов либо совсем не было, либо отходили 1-2 коротких ответвления. Центральная часть кристаллов без рисунка. *S. stellatoidea* - кристаллы с сильно изрезанными краями, но сохраняющие четырехугольную форму. Боковых ответвлений нет. Центральная часть кристаллов густо исчерчена линиями, параллельными боковым граням. *S. tropicalis* - кристаллы неправильной формы, со смещенными центрами, изрезанными краями и боковыми ответвлениями. *S. krusei* - крупные кристаллы правильной формы, трех- и четырехгранные, с хорошо выраженным центром и густой исчерченностью.

Все изученные штаммы перечисленных видов образовывали характерные для них кристаллограммы, позволяющие достаточно четко их дифференцировать. Сравнение данных, полученных с помощью традиционного и кристаллографического методов показало их полное совпадение. При этом, при рутинных методах необходима постановка 8-9 тестов, нередко предусматривающих использование дорогостоящих и дефицитных реактивов, а кристаллографическая идентификация представляет собой постановку практически одного теста на базе весьма доступных расходных материалов.

Таким образом, использование кристаллографического метода позволяет существенно ускорить и упростить идентификацию ГРС по сравнению с традиционными методами распознавания данных микроорганизмов.

Нами создан банк кристаллограмм и ряда других микроорганизмов (*Staphylococcus* spp., *Enterobacter* spp., *Serratia* spp., *Lactobacterium* spp., *Bacteroides*

spp., *Streptococcus pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Helicobacter pylori* и др.). Изучены кристаллограммы свыше 500 культур различных микроорганизмов, выделенных от больных и из объектов внешней среды и установлено наличие специфических особенностей их кристаллограмм. В настоящее время начаты исследования по созданию компьютерной базы кристаллограмм микроорганизмов и разработке алгоритма их компьютерного распознавания, проведены успешные эксперименты по пересылке кристаллограмм по электронной почте.

Дальнейшее совершенствование метода, изучение механизма формирования кристаллов и влияния на этот процесс различных физических и химических факторов, составление баз данных кристаллограмм типовых культур микроорганизмов, создание экспертной системы их распознавания значительно расширят наши возможности в деле систематизации и идентификации микроорганизмов. Помимо этого, возможность использования для анализа электронных версий кристаллических изображений и безопасная пересылка их по электронно-информационным каналам в региональные центры мониторинга, будут способствовать решению проблемы быстрой и достоверной идентификации карантинных и особо опасных микроорганизмов и подтверждения ее результатов, независимо от нахождения места первичного выделения подозрительной культуры.

Таким образом, разработан простой, доступный и весьма экономичный метод идентификации микроорганизмов, позволяющий быстро и с достаточно высокой степенью достоверности определять многие клинически значимые виды возбудителей, хранить биологическую информацию о них и передавать ее по электронно-информационным каналам.

L.G.Bajenov

CRYSTALLOGRAPHIC METHOD OF STUDING OF MICROORGANISMS AND ITS USAGE AT IDENTIFICATION OF FUNGUSES OF THE GENUS CANDIDA

*Republican Specialized Centre of Surgery named after Academician V.Vakhidov
Tashkent, Republic of Uzbekistan*

The summary: The accessible and economic method of identification of microorganisms permitting fast and with sufficient degree of reliance is elaborated to recognise microorganisms, to keep the biological information of them and to transmit it by electronic-information canals. Identification of 21 strains of funguses of the genus *Candida*: *C.tropicalis* (10), *C.krusei* (4), *C.stellatoidea* (4) and *Candida albicans* (3) was carried out with its help. All strains of the listed species formed crystallogramms typical for them, which enable to differentiate them legibly. The results obtained with the help of crystallographic and traditional methods were identical.

E-mail: leobaj@mail.tps.uz