

МИКРО-ЛА-ТЕСТ - УСОВЕРШЕНСТВОВАННЫЕ НАБОРЫ ДЛЯ КЛИНИЧЕСКОЙ МИКРОБИОЛОГИИ

А.Г. Нехорошева, Л.З. Скала, С.В. Поликарпова
Учебно-исследовательский центр АО «ЛабМетод», ГКБ № 15

Микро-ЛА-Тесты (Lachema a.s., Чехия) для идентификации наиболее этиологически значимых микроорганизмов значительно повышают эффективность, быстроту и воспроизводимость работы микробиологических лабораторий. Благодаря высокому качеству и доступности по цене они заняли прочное место в практических лабораториях. Новые усовершенствованные микробиологические наборы Микро-ЛА-Тест отличаются увеличенным количеством биохимических тестов и модификацией используемых субстратов, удобством работы тест-системами на стриппированных планшетах, что позволяет использовать индивидуальные стриппы для отдельных культур. Они удобны в эксплуатации, технологичнее при внесении парафинового масла и реактивов. При оценке качества тест-систем с использованием музейных штаммов установлено соответствие биохимического профиля паспортным данным для испытуемых референтных культур.

Для всех тест-систем разработаны “ИНДЕКСЫ” и “КНИГИ КОДОВ” для проведения идентификации после визуального считывания результатов биохимических тестов.

В таблице 1 приведен перечень усовершенствованных Микро-Ла-Тестов и результаты их оценки при идентификации 994 клинических штаммов микроорганизмов из различных групп. Идентификация осуществлялась с помощью разработанной в АО "Аналитика" (г.Москва) компьютерной про-граммы БАКТ. В зависимости от использованных тест-систем процент идентификации варьировал от 88.8 до 97.5%.

Оценка отдельных тест-систем показала, что при использовании STAPHYtest16, предназначенной для рутинной идентификации стафилококков и дифференциации их от других родственных грамположительных кокков, идентифицировано 179 (97.3%) из 184 исследованных штаммов. Было идентифицировано 19 видов различных грамположительных кокков, из них 15 видов стафилококков : *S. epidermidis* (57 штаммов), *Staphylococcus aureus* (42), *S. haemolyticus* (21), *S. warneri* (9), *S. hominis* (7), *S. saprophyticus* (6), *S. auricularis* (5), *S. cohnii/cochii* и *S. cohnii/ureolyticus* (5) и др.

Для идентификации каталазоотрицательных грамположительных кокков в настоящее время фирма Lachema выпускает отдельные тест-системы: STREPTOtest16 для идентификации стрептококков и EN-COCCUStest для идентификации энтерококков. В качестве разделительного теста при выборе тест-системы предложен полосочный PYRtest для быстрого (5-10 мин) выявления цветной реакции. Данный тест дает положительную реакцию для абсолютного большинства клинически значимых энтерококков. Из стрептококков данный тест положительный только у *S. pyogenes*.

С использованием STREPTOtest16 изучено 99 клинических штаммов, из которых идентифицировано 88 штаммов (88.8%), относящихся к 19 видам различных стрептококков: *Streptococcus pyogenes* (8 штаммов), *S. pneumoniae* (22), *S. oralis/mitis* (13), *S. agalactiae* (9), *S. anginosus* (5), *S. equi/equi* (5), *S. uberis* (6), *S. parauberis* (2), *S. salivarius* (3), *S. sanguis* (3) *S. mutans* gr. (4) и др.

С использованием EN-COCCUStest из 81 клинического штамма идентифицировано 79 культур (97.5%), включающих 6 видов: *E. faecalis* (42 штамма), *E. faecium* (18), *E. durans* (12), *E. avium* (3), *E. gallinarum* и *E. raffinosus* (по 2 штамма).

Для идентификации грамотрицательных ферментирующих бактерий наряду с ENTEROtest 16 в настоящее время предложены модифицированная тест-система ENTEROtest 24 и 2 новые тест-системы для ускоренной идентификации энтеробактерий (4 часа) ENTERO-Rapid 24 и, в основном для уropатогенных культур, ENTERO-Screen. При исследовании 160 клинических штаммов с помощью ENTERO-test 24 идентифицировано 156 культур (97.5%), включающих 31 вид различных энтеробактерий. Практически тот же уровень идентификации получен при использовании ENTERO-Rapid 24 (96.1%). Тест-система ENTERO-Screen была использована при исследовании 101 штамма энтеробактерий, выделенных из мочи, проидентифицировано 99 культур (94.9%), представленных 12 видами.

Наименование тест-систем	Кол-во исследованных штаммов	Идентифицировано штаммов		Кол-во идентифициро- ванных штаммов
		всего	%	
STAPHYtest 16	184	179	97.3	19
STREPTOtest 16	99	88	88.8	19
EN-COCCUStest	81	79	97.5	6
ENTEROtest 24	160	156	97.5	31
ENTERO-Screen	101	99	94.9	12
NEFERMtest 24	142	131	92.2	21
ANAEROTest 23	123	115	93.6	26
ENTERO-Rapid 24	104	100	96.1	18

Таблица 1. Результаты идентификации микроорганизмов различных групп

Для идентификации неферментирующих грамотрицательных бактерий новая тест-система NEFERMtest 24 была использована при исследовании 142 штаммов различных неферментирующих бактерий, выделенных из клинического материала. Идентифицирована 131 культура (92.2%). Спектр включает 21 вид микроорганизмов этой группы, в том числе *Pseudomonas aeruginosa* (45 штаммов), *Stenotrophomonas maltophilia* (22), *Alcaligenes xylosoxidans/xylosoxidans* (14), *Acinetobacter baumannii* и *calcoaceticus* (13), *A.lwoffii* (4), *Burkholderia ceracia* (7), *Bordetella bronchiseptica* (4), *Moraxella nonliquefaciens* (4) и другие.

Анаэробные микроорганизмы, выделенные из клинического материала в Институте хирургии им. А.А. Вишневого и в ЦИТО, идентифицировали с помощью ANAEROTest 23. При этом из 123 штаммов верифицировано 115 (93.6%), в том числе 28 штаммов из группы анаэробных кокков и (7 видов), 24 – грамположительных неспорообразующих палочек (5 видов) и 5 спорообразующих палочек (3 вида), 58 - грамотрицательных палочек (11 видов).

Большой интерес представляет сравнение результатов идентификации, полученных при использовании коммерческих тест-систем различных фирм производителей. Результаты сравнительного исследования 94 клинических штаммов микроорганизмов разных групп, проведенного с использованием тест - систем фирмы Lachema и фирмы bioMerieux, показали, что при равном проценте идентификации частота совпадений результатов для энтеробактерий составляла 100%, стрептококков –87.5%, неферментирующих бактерий – 85.7% и стафилококков – 84.6%.

Кроме тест-систем фирма Lachema выпускает диагностические полоски, которые могут быть использованы как дополнительные тесты к планшетным (VPtest, OXItest, PYRtest, ONPtest, HIPPURATtest), так и самостоятельно в качестве идентификационных (COLItest и SALMtest).

Идентификационные полоски COLItest предназначены для быстрой идентификации кишечной палочки и дифференциации ее от других грамотрицательных оксидазоотрицательных бактерий, выделенных из клинического материала, пищевых продуктов, воды и т.д.

Идентификация основана на определении глюкуронидазной активности (GLRtest) по флюоресценции конечного продукта реакции и образования индола. Результаты анализов учитываются через 4 часа инкубации в термостате.

Исследования проведены на 258 штаммах грамотрицательных оксидазоотрицательных бактерий, в том числе 232 штамма энтеробактерий и 26 штаммов неферментирующих глюкозу бактерий. Установлено, что из 116 штаммов кишечной палочки тест GLR давал положительную реакцию в 92.2% случаев (таблица 2). Ни в одном случае из исследованных нами 118 штаммов энтеробактерий, относящихся к 18 видам, и 26 штаммов культур из 3 видов неферментирующих бактерий не было выявлено ни одного положительного результата этого теста. Тест на индол у всех индолположительных культур выявлялся через 4 часа инкубации. Проведенные исследования показали, что COLItest является достаточно специфичным, т.к. позволяет идентифицировать более 90% штаммов кишечной палочки без постановки дополнительных тестов.

Диагностические полоски SALMtest рекомендуются в качестве экспресс теста на сальмонеллы по определению активности С8-эстеразы на базе флюоресценции, типичной для этих микроорганизмов. Результат теста регистрируется через 15 мин. Исследования проведены кроме

бактериологической лаборатории ГKB №15 в санитарно-бактериологической лаборатории ЦГСЭН ВАО.

Всего изучено 175 культур оксидазоотрицательных микроорганизмов различных групп (энтеробактерии и неферментирующие глюкозу бактерии), в том числе 39 сальмонелл различных серогрупп. Результаты проведенных исследований показали, что все изученные сальмонеллы давали положительный результат при использовании диагностических полосок. К сожалению, аналогичные результаты были получены и при испытании 18 штаммов *Serratia marcescens* и 14 штаммов *Stenotrophomonas maltophilia*. Слабо выраженные положительные реакции были выявлены и у отдельных штаммов других микроорганизмов (1 штамм из 15 клебсиелл, 4 штамма из 18 ацинетобактеров, 1 штамм из 18 кишечных палочек). Несмотря на то, что Salmtest дает ложноположительные реакции у некоторых микроорганизмов, он положителен у 100% исследованных сальмонел и обеспечивает получение результата в течение 15 мин. Поэтому считаем перспективным его использование в качестве скринингового теста, особенно в очагах инфекций, а также в качестве дополнительного теста при идентификации энтеробактерий.

Наименование	Название микроорганизма		Кол-во исследованных штаммов	Количество штаммов		Количество идентифицированных штаммов, %
				Полож (+)	Отриц (-)	
САЛЬМ тест	Salmonella spp		39	39	0	100.0
КОЛИ тест	E.coli	IND+	98	91	7	92.9
		IND-	18	16	2	88.8

Таблица 2. Результаты исследования диагностических полосок САЛЬМтест и КОЛИтест

Все «Микро-Ла-Тесты®» фирмы «Lachema a.s.» зарегистрированы Минздравом РФ.

Таким образом, использование описанных тест-систем обеспечивают возможность одномоментного определения широкого ряда биохимических реакций, позволяющих провести идентификацию в один этап, значительно расширить спектр идентифицируемых культур при сокращении сроков выдачи анализов, материальных и трудовых затрат, использовать автоматизированную оценку результатов со стандартной математической обработкой данных.