

Лекция 3-4

Микроорганизмдерді идентификациялау әдістерін жіктеу

Бактериялардың қасиеттерін анықтайтын әдістер көптеген бактерияларды анықтауда негіз болып табылады.

- Морфологиялық (жеке клеткалардың құрылысы мен ерекшеліктерін)
- Культуральдық (қоректену, тыныс алу, өсу жаңдайлары)
- Ферментативті (бактериялардың белоктар мен қанттарды ыдырату және эритроциттерді бұзу қабілеттіліктеріне байланысты биохимиялық қасиеттері)
- Антигендік (бактериялардағы антигендердің ерекшеліктеріне байланысты қасиеттері)

Микроорганизмдердің таза культураларын бөліп алу және анықтау микробиологтар үшін бар уақытты өзекті болды. Микроорганизмдерді анықтау алдында таза культураларды бөліп алу қажет. Бұл басқа микроорганизмді өспеуін талап етеді. Таза культура болмаса зерттеу жұмысына орасан зор кедергі келтіреді.

Молекулалық биология әдістерінің жетістікпен дамуына байланысты геносистематиканың дамуына бастама болды. Генотипті зерттеуге кіретін нуклеин қышқылдарын талдай отырып микроорганизмдердегі филогениясын құрауға болады.

Микроорганизмдерді анықтау әдістері

Күнделікті – таза дақылдарыды бөліп алуға негізделген. Бұл көптеген реакциялар мен қоректік орталардың құрам бөліктерін және өте ұзақ уақытты қажет етеді

Қазіргі заманғы немесе заманауи әдістер – тез әрі көп заттарды, уақытты тіпті таза культура бөліп алуды қажет етпейді.

Ашытқылар үшін нумералогиялық таксономия әдістерін қолданады. Әдіс мәліметтер базасындағы белгілермен зерттелген культурада табылған әртүрлі фенотипті белгілердің сандық қатынасына негізделген. Бұл әдісті туыс не түрдің арасындағы ұқсастықтарды бағалау үшін ғана қолдануға бюолады. Тұқымдас және оданда жоғары рангтер үшін тиімсіз болады. Нумералогиялық таксономия әдісі де филогенетикалық қасиеттерге қатысты, бірақ генетикаға қатысты түйіндер жасалынбайды.

Қазіргі заманғы әдістер әдістерді қолдана отырып бактерияларды анықтау екіге жіктелінеді:

- Қолмен жасау ;
- Автоматты;

Қолмен жасау – индикатор қағаздары жүйесі, мультимикротестер, хроматографиялық әдіс жатады.

Қолмен тестілеу көбінесе медициналық микробиологияда маңызды және кең қолданылады. Бұл әдісті жасау стандартты жағдайды сақтаумен жүргізеді.

Соңғы жылдары әртүрлі тест-жүйелер жасалды: API тест, Enterotube, Mycotube, Patho-Tec, СИБ, ПБДЭ және т.б.

Enterotube жүйесі 12 ұяшығы бар боялған диагностикалық орталар бар пластикалық камералар. Бұндағы қоректік орталарға материалды егу микробиологиялық тұзақпен жүзеге асады. Инкубациялау уақыты 37 °C да 24 сағат. Оң немесе теріс нәтиже туралы мәліметті қоректік ортаның түсі өзгеруіне қарай немесе арнайы реактивтерді (индол түзуге тест, Voges-Проскауэр реакциясын) енгізу арқылы бағалайды. Әр белгіні белгілі бір санмен белгілеп, сәйкес бағдарламасы бар компьютерге енгізеді және зерттелетін штамның таксономиялық жағдайына жауап алады.



Сурет 1 – Грам теріс бактерияларды анықтауға арналған Enterotube, тест-жүйесі.

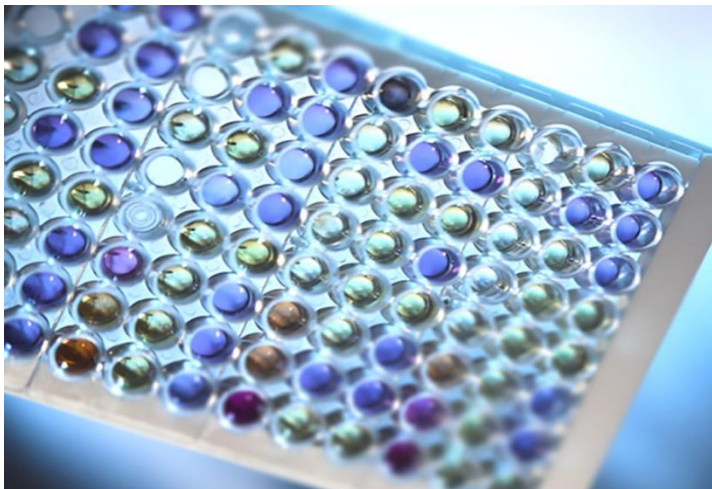
Энтеробактерияларды анықтауға арналған **Enterotube** жүйесі (АҚШ) әртүрлі агар орталарымен толтырылған 12 бөлімі бар пробиркадан тұрады. Бөлімшелерден жұқа металл өзегі бар канал өтеді. Таяқшаның шығыңқы ұшы колонияға тиіп, содан кейін оны барлық бөлімдер арқылы тартады, осылайша әртүрлі орталарды егеді. Кейбір ауаны қорғау құралдары балауыз қабатымен қапталған.

15 түрлі биохимиялық реакциялардың нәтижелері 24 сағат бойы инкубациядан кейін есепке алынады. Enterotube жүйесіне нәтижелерді жазуға арналған бланк қоса беріледі. Әрі қарай анықтау кодтық кітаптың көмегімен жүзеге асырылады.

Enterotube грам-теріс оксидаза белсенділігі (теріс) бактерияларының оқшауланған колонияларын анықтау үшін ұсынылады. Қоректік орта ретінде Enterobacteria өсіру үшін Макконки агары, Эндо агары, СС-агар қолданылуы мүмкін.

Қосымша сынақтар немесе тазалықты тексеру қажет болса, дақылды энтеротрубадан қажетті ортаға немесе сорпаға ауыстыруға болады. Ол үшін стерильді пинцетпен түтіктен алынған инені Петри табақшасының үстінен ұстау жеткілікті. Бактериялары бар ортаны пластикалық пленканы алып тастағаннан кейін стерильді ілмекпен оң бөліктен де алуға болады.

Микроорганизмдерді идентификациялауға арналған MIKROLATEST® тест-жүйелері



MIKROLATEST® сынақ жүйелері - бактериялар мен саңырауқұлақтардың 520-дан астам түрін анықтаудың дәл нәтижелері.

MicroLaTest® жинақтары 8, 16 немесе 24 биохимиялық реакцияларды орнатуға арналған 1,2 немесе үш қатарлы тік жолақтары бар 96 шұңқырлы микротитрлік пластиналар болып табылады. Ұяшықтарда сусызданған субстраттар бар. Микроорганизмдердің суспензиясын қосқанда субстраттар ериді, инкубациялау кезінде биохимиялық реакциялар жүреді, оның нәтижелері реагент қосқаннан кейін индикатор түсінің өзгеруі арқылы визуалды немесе автоматты түрде фотометрлік есептеулер жүргізеді.

MicroLaTest® жинақтарының артықшылықтары

Таксондарды дәл анықтайды

4 сағатта микроорганизмдерді жылдам идентификациялауға арналған тест-жүйелердің болуы

Керекті материалдарының жоғары жарамдылық мерзімі

Нәтижелерді визуалды немесе фотометриялық есепке алу мүмкіндігі

MIKROLATEST® өнімдеріне мыналар кіреді:

ID жиынтықтары

Көмекші материалдар (реагенттер, суспензия орталары, сәйкестендіру құралдары)

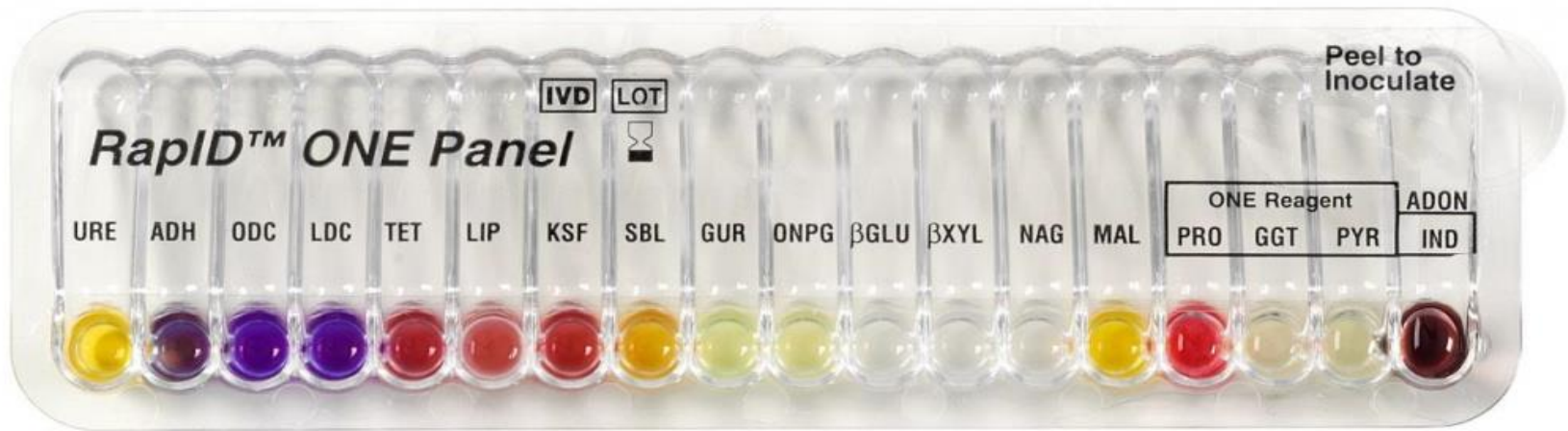
Диагностикалық жолақтар

Диагностикалық дискілер

Құралдар мен қондырғылар

Мультимикротест жинақтары

Бұлар ұяшықтары бар пластиктен жасалған планшеттер түрінде болады. Ұяшықтарда бактериялардың метаболизм өнімдері бар қоректік субстраттар индикатор ретінде орналастырады. Энтеробактериялар, листерияларды, стафилококктарды және т.б жылдам 4-8 сағат аралығында анықтау үшін Rapid ID, Thermo FS тестері қолданылады.



Микроорганизмдердің түрін жылдам биохимиялық идентификацияға арналған - Rapid ID, Thermo FS (Oxoid) тест жүйелері

Rapid ID Manual Microorganism Identification Test Systems

(Thermo FS) биохимиялық сынақтарға негізделген, олар 4 сағат ішінде нәтиже беретін микроорганизмдерді анықтаудың жеделдетілген әдісі болып табылады. **Rapid ID тест** жүйелері микроорганизмнің ерекше ферментативті белсенділігін, сондай-ақ оның көмірсуларды пайдалану қабілетін анықтау үшін лиофилденген субстраттары бар ұяшықтары бар мөлдір пластиктен жасалған панельдер болып табылады. Микроорганизмнің таза культурасының суспензиясы субстраттар еритін ұяшықтарға енгізіледі. Содан кейін сынақ тиісті жағдайларда инкубацияланады және 4 сағаттан кейін нәтиже есепке алынады. Нәтиже ұяшықтардағы суспензия түсін өзгерту арқылы жазылады. Оң және теріс баллдардың алынған үлгісі сынақ нәтижелерін дерекқорға сәйкес келетін реактивтілік үлгілерімен салыстыру арқылы сыналатын изолятты анықтау үшін негіз ретінде пайдаланылады.

Сынақ нәтижелері бойынша бактерияларды анықтау кестеге сәйкес қолмен немесе **Eric** бағдарламасы арқылы жүзеге асырылады. RapID сынақ жүйелері тәуелсіз тестілеу үшін немесе автоматтандырылған жүйелерге қосымша ретінде өте қолайлы.

- анаэробтарды,
- ашытқыларды,
- Neisseria-Haemophilus,
- Enterobacteriaceae,
- стафилококктарды,
- стрептококктарды,
- Коринебактерияларды,
- Pseudomonas aeruginosa, Acinetobacter анықтау.

Rapid ID көмегімен микроорганизмді анықтау бірнеше кезеңде жүзеге асырылады:

- культураны дайындау;
- егу, сынамананы культивациялау және нәтижесін жазу;
- арнайы мәліметтер базасының көмегімен алынған нәтижені түсіндіру.

Индикаторлы қағаздар жүйесі (ИҚЖ) әртүрлі қоректік орталар сіңдірілген дискілер түрінде болады. Бұл арнайы дискілер бактерия бар пробиркаларға немесе алдын ала зерттелетін микроорганизм культурасын планшеттің ұяшықтарына салынады. Көбінесе энтеробактериялар мен нейссерияларды анықтау үшін Minitек (Enterobacteriaceae) және Minitек (Neisseria) фирмаларының дискілері қолданылады. Дайын нәтижені 37 °С 4 сағат ішінде бағалауға болады.



№1 реагент жинағы: вибриондарды анықтауға арналған қағаз индикаторлық жүйелер. Глюкоза, лактоза, сахароза, манноза, арабиноза, маннитол, инозитол, лизин, орнитин, аргинин, уреаз, оксидаза және индолдың болуын анықтауға арналған 13 сынамадан тұрады. Жинақ 50 сынаққа арналған, ИҚЖ дискілері бар 11 құты мен ИҚЖ жолақтары бар 2 түтіктен тұрады. Олар тиісті индикатормен біріктірілген субстраттың белгілі бір мөлшерін қамтитын хроматографиялық қағаздар.

Функционалдық мақсаты

Вибрио туысын анықтауға және таза дақылдарда тырысқақты жедел диагностикалауға арналған.

Зерттеу қоректік агарда бөліп алынған жеке колониямен жүргізіледі, спецификалық қасиеттері бірқатар биохимиялық сынақтарды орнату арқылы анықталады: оксидаза мен уреаз белсенділігін анықтау, көмірсулар мен көп атомды спирттерді пайдалану қабілеті (түстің өзгеруі және газ түзілуі бойынша), индол түзілуі, лизиндекарбоксилаза, орнитин және аргининдегидролаза болуы.

Диск сынауға сәйкес ортасы бар пробиркаға салынады, реакцияның дұрыстығының критерийі бақылаумен салыстырғанда түсінің анық айырмашылықтары болуы керек.