

Эмерджентті микоздарды анықтаудың заманауи әдістері

Қожахметова Г.Қ.

«Астана медицина университеті» КеАҚ

«Биология» мамандығы бойынша 1 жыл докторанты

Эмерджентті микоздар

- ▶ бұл көптеген адамдарда кездесетін саңырауқұлақтар тудыратын аурулар тобы, бірақ иммундық жүйе бұзылған жағдайда ғана инфекцияға әкелуі мүмкін

Өзектілік

- ▶ Тиісті және уақтылы терапияны, сондай-ақ жаңа пайда болған эмерджентті микоз қоздырғыштар туралы жаңартылған хабардарлықты қамтамасыз ету үшін саңырауқұлақтың нақты бір түр деңгейіне дейін дәл идентификациялануы өте маңызды

Мақсаты

- ▶ Эмерджентті микоз қоздырғыштарын идентификациялаудың заманауи әдістерін талдау

Микробиологиялық зерттеу әдісі

1-ші күн

- Клиникалық материалды қоректік ортаға себу

2-ші

- Таза дақылды бөліп алу

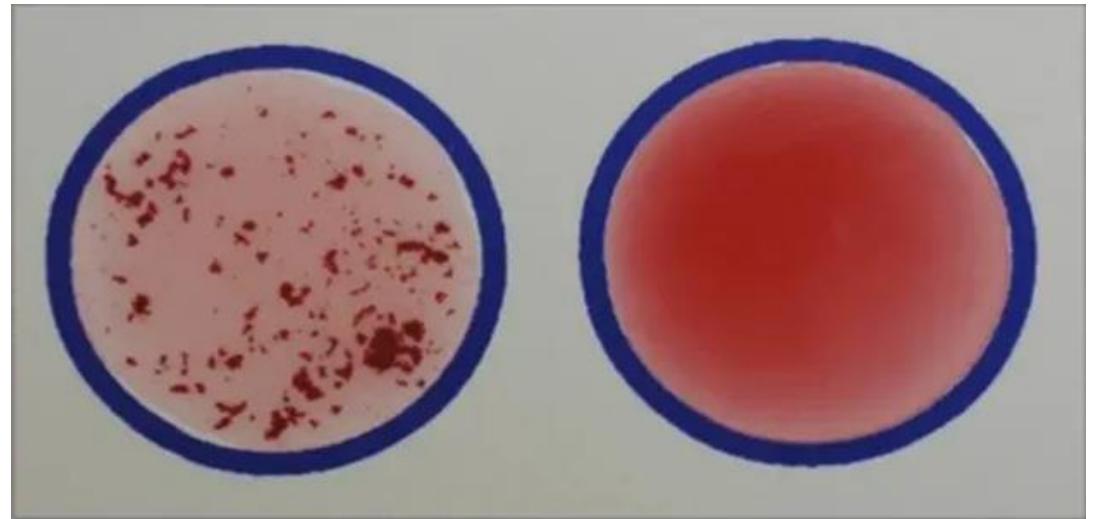
3-ші

- Таза дақылды анықтау

Заманауи әдістер

- ▶ Серологиялық әдіс (АР, ИФТ және баска)
- ▶ ПТР
- ▶ MALDI–TOF масс–спектрометриясы

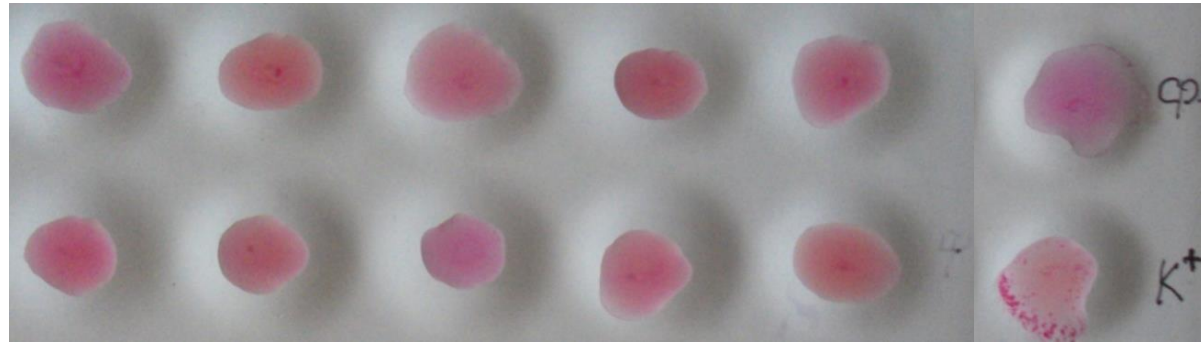
Агглютинация реакциясы

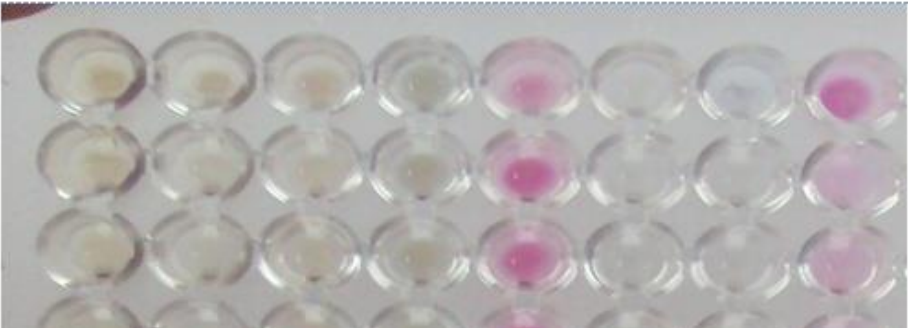


+

-

A photograph showing four identical, pink, spherical capsules arranged in a 2x2 grid on a white circular plate. The capsules have a slightly textured, granular surface. The plate is set against a light-colored, speckled background.



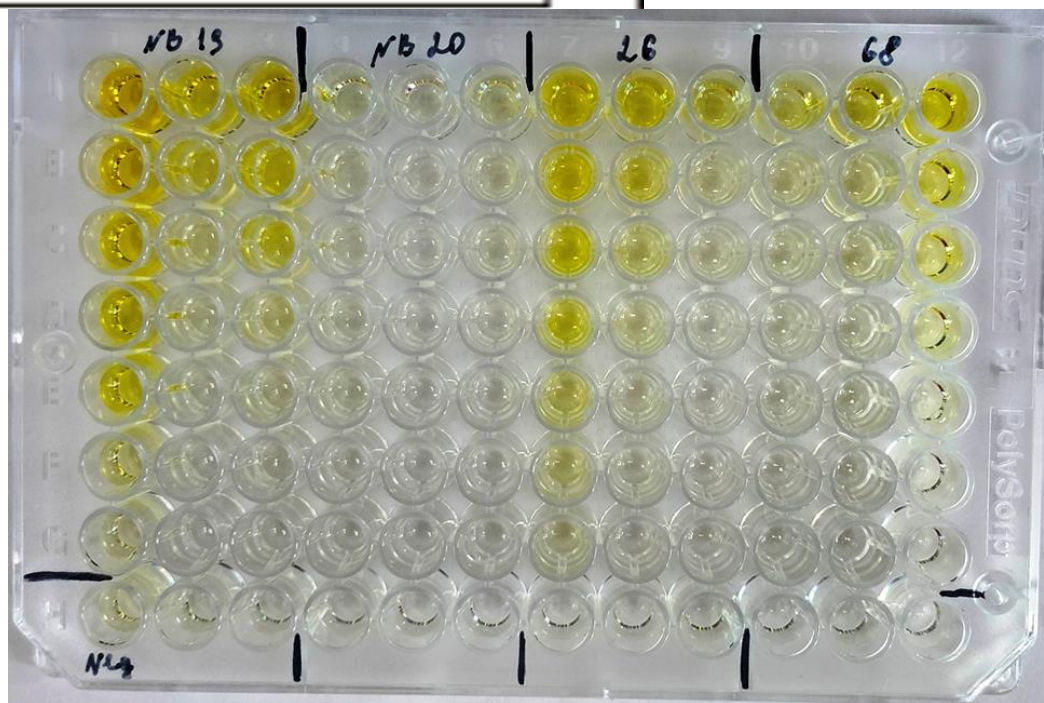
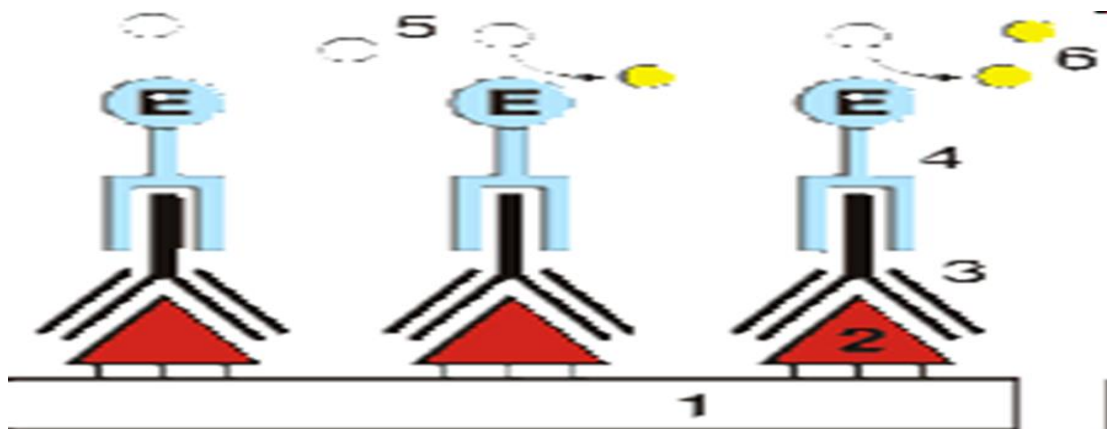
	1	2	3	4	5	6	7	8	
A									1:2
B									1:4
C									1:8
D									1:16
E									1:32
F									1:64
G									1:128
H									1:256

Иммуноферментті талдау

- ▶ Ферменттермен таңбаланған реагенттерінің



Бұл схемада антигендер (2) планшеттің ойықтарына (1) орнатылған. Ойыққа зерттелетін сары су енгізіледі. Егер сары суда антигендерге қарсы антиденелер (3) болса, инкубациялану кезінде антиген/антидене байланысы түзіледі.



Планшеттің ойықтарын байланыспаған конъюгаттан тазалап, оған түссіз субстрат (5) қосылады, бұл субстратқа фермент (E) әсер етіп, оны бояйды (6).

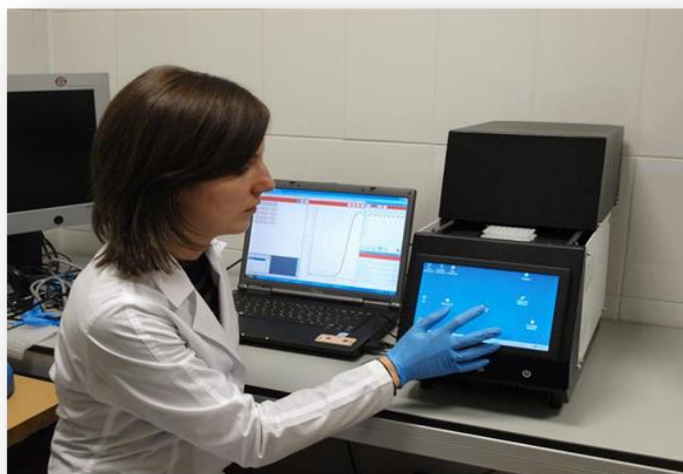
ПТР

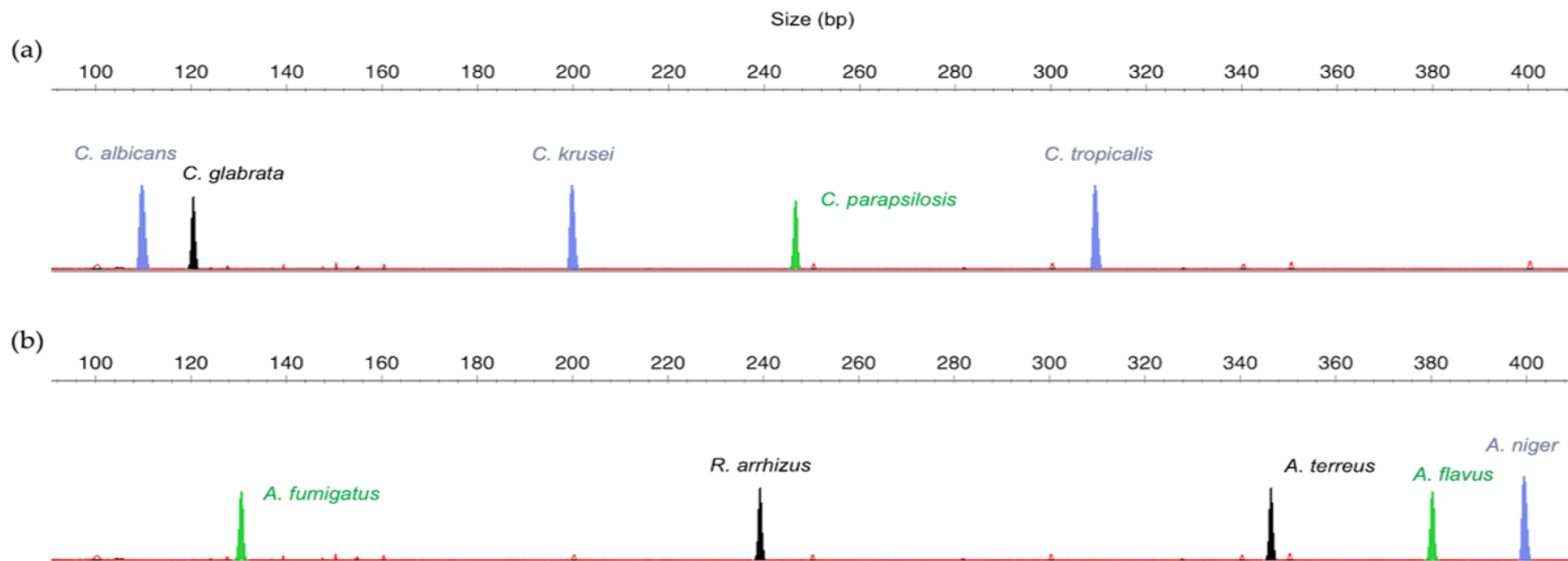
- ▶ ПТР негізіндегі талдаулар қазір нуклеин қышқылдарына немесе молекулалық әдістерге негізделген саңырауқұлақ диагностикасының ең жиі қолданылатын тәсілі болып табылады. Нақты уақыттағы ПТР (RT-ПТР) бұл салада ерекше үлкен жетістік болды.



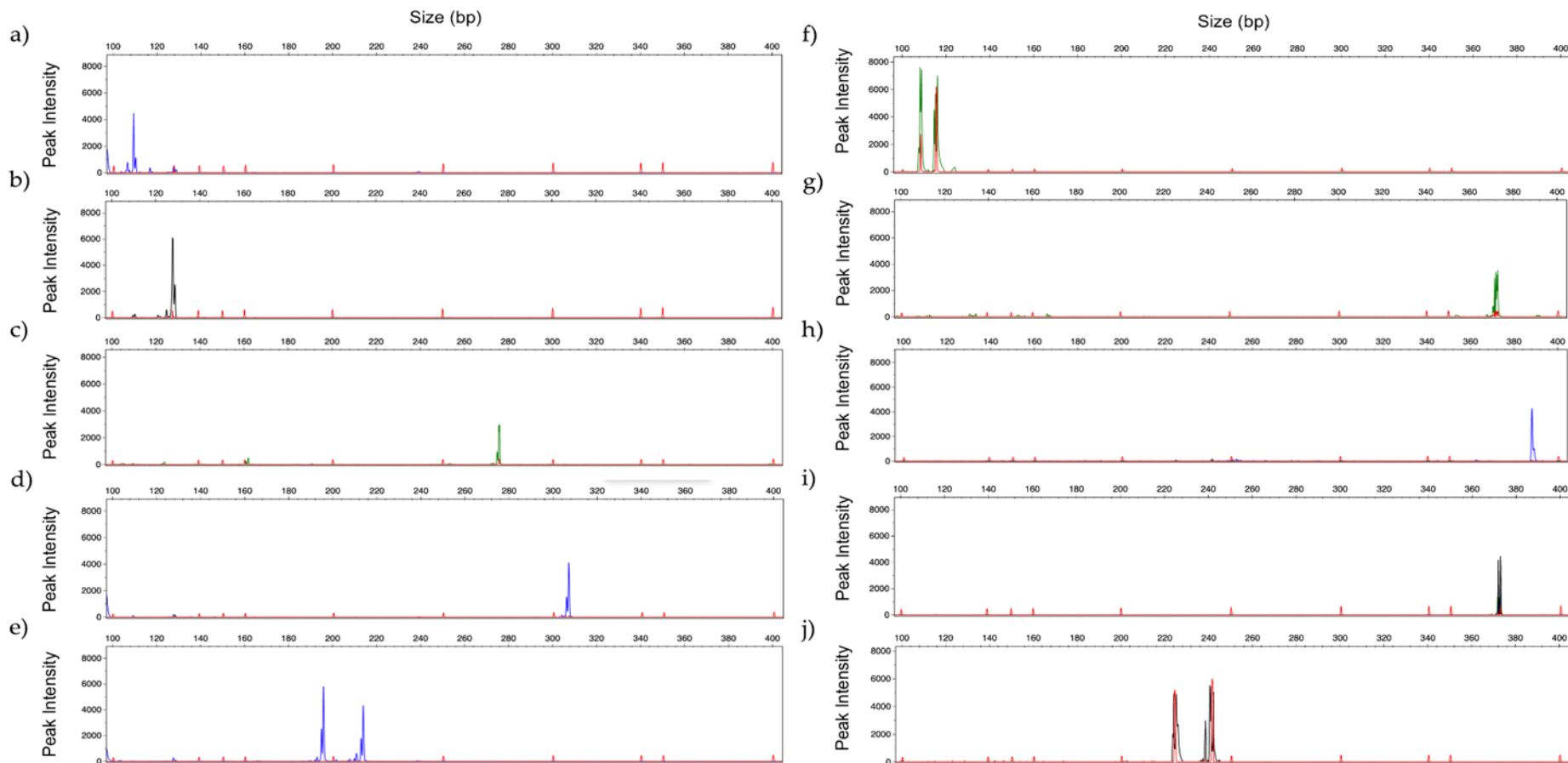
Бұл әдістің негізгі артықшылықтары:

- күшейту және нәтижелерді анықтау кезеңдерін біріктіру
- фрагменттің ішкі бөлігін толықтыратын арнайы зондтың болуы
- флуоресценция қарқындылығын тіркеу– үлгінің бастапқы ДНҚ-сын сандық анықтау мүмкіндігі
- бірнеше ПТР өткізу мүмкіндігі



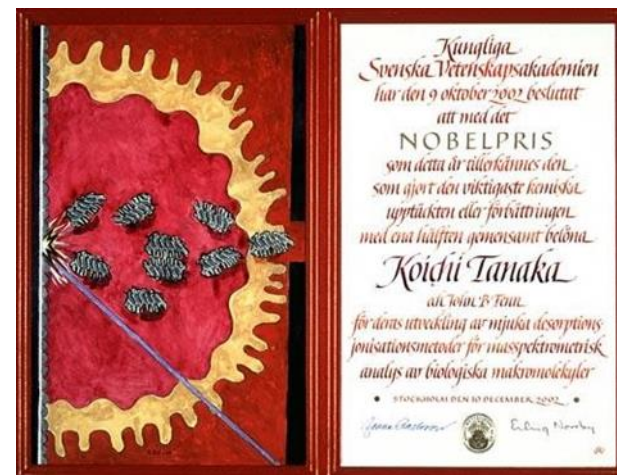
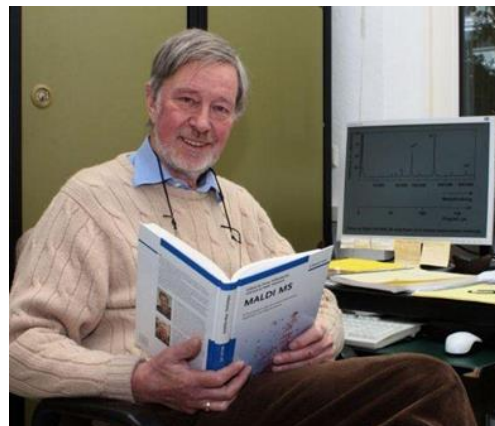


Схемалық көрінісі: (a) *Candida* панельдері және (b) молекулярлық салмақты полимеразды тізбекті реакция (ПТР) өнімдерін әртүрлі бояғыштармен біріктіретін жіпше тәрізді саңырауқұлақтар панельдері (FAM = көк, HEX = жасыл, NED = қара)

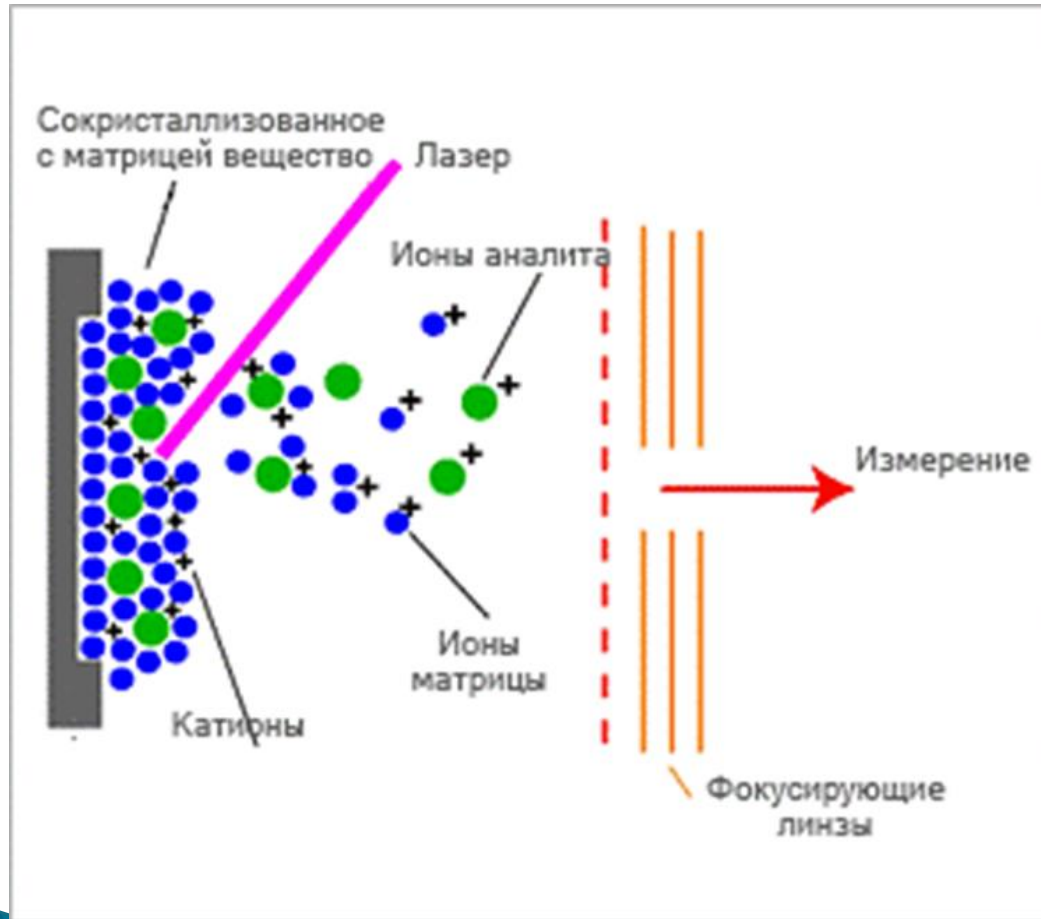


2 нж ДНҚ бар моноплексті талдау арқылы алынған GenScan өкілі профильдері: (a) *C. albicans* (көк); b – *C. glabrata* (қара); (c) *C. парапсилос* (жасыл); (d) *C. tropicalis* (көк); (e) *C. krusei* (көк); (e) *A. fumigatus* (жасыл); (g) *A. flavus* (жасыл); (h) *A. нигер* (көк); (i) *A. terreus* (қара); және (j) *R. arrizus* (қара). (Флуоресцентті бояғыштар: FAM = көк, HEX = жасыл, NED = қара).

MALDI-TOF масс-спектрометриясы



Масс-спектрометрия



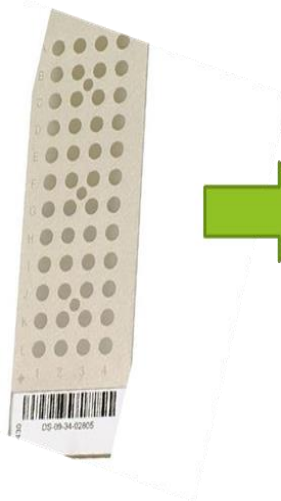
- ▶ Масс-спектрометрия – иондарды олардың массалық қатынасына сәйкес иондау, бөлу және анықтау арқылы белгісіз молекулалардың массасын өлшеу үшін қолданылатын химиялық талдау әдісі зарядқа (оларды оң және теріс иондарға бөлу). Деректер масс – спектрлер түрінде жазылады.
- ▶ **Maldi-TOF масс-спектрометрия** патогендік ақуыздарды анықтау мен талдаудың негізгі көмекші әдісіне айналады.

MS жұмыс кезеңдерінің схемасы

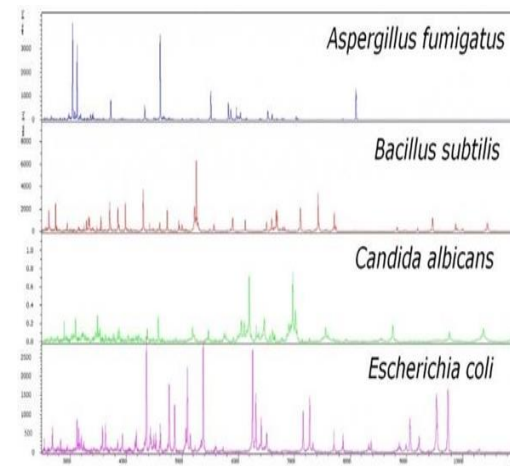
1-Қадам микроорганизм өсіру (24 сағаттан аспайды)



2-қадам слайдқа молекулаларды салу (1 слайд-48 Үлгіден/192 үлгіге дейін)

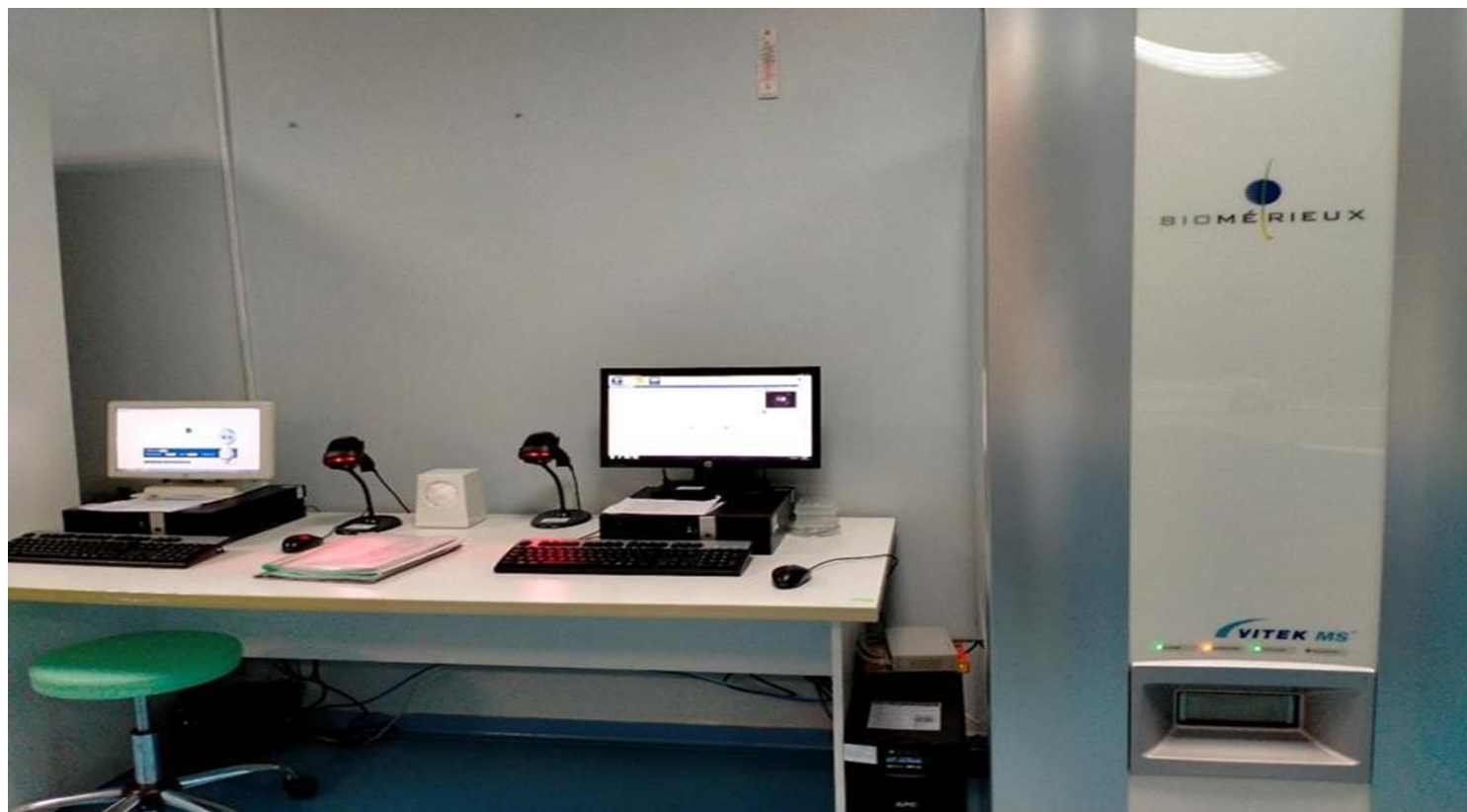


3-қадам үлгіге матрицалық ерітіндіні құю. Күту: 1-2 мин.



5-қадам спектрді жүзеге асуы. 1-ге үлгіге 2 минутқа дейін

VITEK MS жүйесі



Қорытынды

- ▶ МСМ әдісі микоз түрлік және сандық құрамын зерттеу үшін тиімді. МСМ сезімталдығы микроорганизмдерді индикациялау, анықтау және сандық талдауда ПТР әдісінен кем түспейді. МСМ әдісімен алынған нәтижелер клиникалық тәжірибеде үлкен сенімділікпен қолданылуы мүмкін
- ▶ Масс-спектрометрияны үлкен зертханалар немесе ұжымдық пайдалану орталықтары үшін қарастырған жөн, ал кішігірім ғылыми бөлімшелер жағдайында нақты уақыттағы ПТР оңтайлы болып қала береді
- ▶ Сонымен қатар културалды әдісте әліде қолданыстан шықпады.

Назарларыңызға рахмет!