

ПРИМЕНЕНИЕ MALDI-TOF МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ В СИСТЕМЕ МОНИТОРИНГА ВИБРИОФЛОРЫ ПОВЕРХНОСТНЫХ ВОДОЕМОВ



Е.А. Басов

ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора, г. Иркутск



Введение

Мониторинг вибриофлоры поверхностных водоемов является важным звеном в системе эпидемиологического надзора за холерой. При его осуществлении одно из требований - скорость и достоверность идентификации холерного вибриона. В настоящее время таким требованиям отвечает MALDI-TOF масс-спектрометрический анализ, позволяющий идентифицировать микроорганизмы на основании их белкового профиля.

Цель работы – оценка эффективности использования прямого белкового профилирования с использованием MALDI-TOF масс-спектрометрического анализа в мониторинге вибриофлоры поверхностных водоемов.

Материалы и методы

При проведении мониторинга вибриофлоры поверхностных водоемов г. Иркутска в летний период 2012-13гг. исследовано 1872 пробы (вода, ил, гидробионты, водоросли) из 16 стационарных точек (рис. 1). Бактериологическому и масс-спектрометрическому анализу подвергались колонии, морфологически сходные с *V. cholerae*. Масс-спектрометрический анализ осуществлялся после предварительной постановки ориентировочной реакции агглютинации с холерными сыворотками O1 и O139: не агглютинирующиеся культуры исследовались прямым нанесением на MSP-чип, агглютинирующиеся одной из сывороток предварительно проходили спиртовую обработку с последующей экстракцией белка ацетонитрилом и муравьиной кислотой (рис. 2).

Результаты

Всего исследовано 583 колонии, морфологически сходные с *V. cholerae*. Из них масс-спектрометрически к *V. cholerae* отнесено 220 колоний из 76 проб воды и ила, отобранных в стационарных точках поверхностных водоемов г. Иркутска (76 культур *V. cholerae*). Индекс совпадения белковых профилей исследуемых культур с данными базы MALDI Biotyper 3,0 составил более 2,0, что свидетельствует о вероятной или достоверной идентификации до видового уровня. Бактериологически подтверждены результаты масс-спектрометрической идентификации 65 культур. Из них две культуры по комплексу признаков отнесены к *V. cholerae eltor*, остальные – к *V. cholerae* не O1/O139. Кроме того, масс-спектрометрически идентифицировано 6 культур *V. fluvialis* и 15 – *V. metschnikovii*. Выявленные различия масс-спектрометрической идентификации и бактериологического анализа требуют дальнейшего исследования с применением молекулярно-генетических методов, позволяющих определить таксономическую принадлежность микроорганизма.

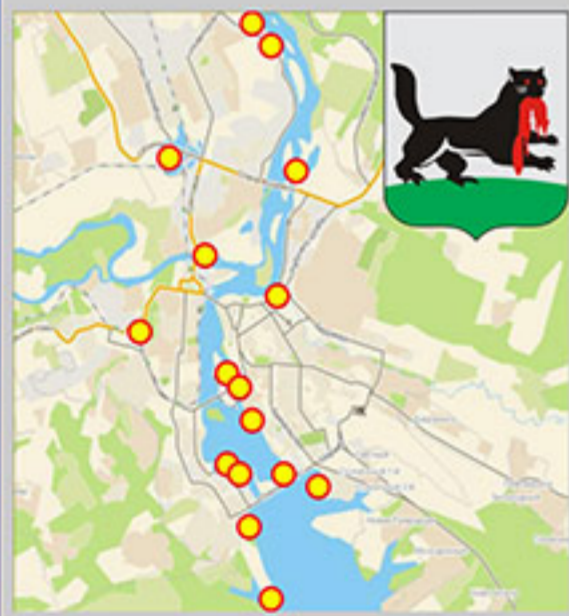
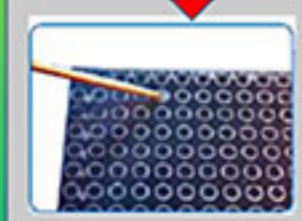


Рис.1 Стационарные точки отбора проб на *V. cholerae* из поверхностных водоемов г. Иркутска.



Отбор подозрительных колоний, ориентировочная реакция агглютинации



Нанесение на MSP-чип



Получение спектров



Сопоставление результатов с базой данных прибора

Range	Description	Symbol	Color
2,00 - 2,99	highly probable genus identification	(+++)	green
1,00 - 1,99	some genus identification, probable species identification	(++)	green
0,70 - 0,99	probable genus identification	(+)	yellow
0,00 - 0,69	no reliable identification	(-)	red

Достоверность результата в зависимости от индекса совпадения

AnalyteName	AnalyteID	Organism(s) (with %)	Score/Value
(X)(+++)(A)	Saber_39	Vibrio cholerae	2,00
(X)(+++)(A)	Saber_39	Vibrio cholerae	2,00
(X)(+++)(A)	Saber_39	Vibrio cholerae	2,00

Результат

Рис. 2 Схема идентификации микроорганизмов с использованием MALDI-TOF MS при осуществлении мониторинга вибриофлоры поверхностных водоемов.

Выводы

Методика MALDI-TOF масс-спектрометрической идентификации показала высокую эффективность при осуществлении мониторинга вибриофлоры поверхностных водоемов и может быть рекомендована для включения в схему лабораторной диагностики холеры.

Литература

1. Балахонов С.В., Миронова Л.В., Урбанович Л.Я. и др. Эпидемиологический надзор за холерой в Сибирском и Дальневосточном регионах и совершенствование микробиологического мониторинга *Vibrio cholerae* // Холера и патоген. для человека вибрионы: Матер. Совещания специалистов Роспотребнадзора в г. Ростове-на-Дону (5-5 июня 2013 г.). – Ростов-на-Дону: Дониздат, 2013. – Вып. 26. – С. 61-69
2. Лабораторная диагностика холеры: Методические указания МУК 4.2.2218-07. – М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2007. – 87 с.
3. Drevinek M., Dresler J., Klimentova J., Pisa L. et al. Evaluation of sample preparation methods for MALDI-TOF MS identification of highly dangerous bacteria. Letters in Applied Microbiology. 2012, 55: 40–46.
4. van Veen S. Q., Claas E. C. J., and Kuijper Ed J. High-Throughput Identification of Bacteria and Yeast by Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization–Time of Flight Mass Spectrometry in Conventional Medical Microbiology Laboratories. J. Clin. Microbiol. 2010, 48: 900–907.

Научно-практическая конференция молодых ученых "От эпидемиологии к диагностике актуальных инфекций: подходы, традиции, инновации". г. Санкт-Петербург, 23-25 апреля 2014 г.