



## ИННОВАЦИОННЫЕ МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ ДИАГНОСТИКИ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ИНФЕКЦИЙ: ПЦР, MALDI-TOF MS И СЕКВЕНИРОВАНИЕ НОВОГО ПОКОЛЕНИЯ

**Улмасов Темуржон Шохдавлатович**

*Студент 3го-курса:*

**Вахидова.А.М**

*Научный Руководитель: ZARMED UNIVERSITY*

**Аннотация:** *Бактериальные инфекции остаются серьезной глобальной проблемой здравоохранения, требующей быстрой и точной диагностики для эффективного лечения и предотвращения распространения. Традиционные методы микробиологической диагностики часто являются трудоемкими и занимают много времени, что может приводить к задержкам в назначении необходимой терапии. В последние годы молекулярные методы диагностики, такие как полимеразная цепная реакция (ПЦР), масс-спектрометрия с матрично-активированной лазерной десорбцией/ионизацией (MALDI-TOF MS) и секвенирование нового поколения (NGS), произвели революцию в области диагностики бактериальных инфекций. В настоящей статье рассматриваются принципы, преимущества и ограничения этих инновационных технологий, а также их применение в клинической микробиологии. Особое внимание уделяется анализу результатов различных исследований и обсуждению перспектив их использования в диагностике бактериальных инфекций.*

**Ключевые слова:** *ПЦР, MALDI-TOF MS, секвенирование нового поколения, бактериальные инфекции, диагностика, молекулярная микробиология.*

### **ВВЕДЕНИЕ**

Бактериальные инфекции представляют собой значительную угрозу общественному здоровью, приводя к широкому спектру заболеваний от легких локализованных инфекций до тяжелого сепсиса и смерти.

Своевременная и точная диагностика играет решающую роль в эффективном лечении, контроле распространения инфекции и предотвращении развития устойчивости к антибиотикам.

Традиционные методы диагностики бактериальных инфекций, такие как окраска по Граму, культивирование и определение чувствительности к





антибиотикам, основаны на фенотипических характеристиках микроорганизмов и могут занимать от нескольких дней до нескольких недель для получения результатов.

Это затягивает процесс принятия решений о лечении и может способствовать нерациональному использованию антибиотиков. Молекулярные методы диагностики предлагают более быстрый, чувствительный и специфичный подход к выявлению и идентификации бактерий. Эти методы основаны на анализе генетического материала бактерий, что позволяет выявлять даже некультивируемые или труднокультивируемые микроорганизмы. В последние годы молекулярная диагностика бактериальных инфекций претерпела значительный прогресс благодаря разработке и внедрению таких технологий, как ПЦР, MALDI-TOF MS и NGS.

Цель исследования: Данная статья направлена на обзор и анализ современных достижений в области молекулярной диагностики бактериальных инфекций с акцентом на методы ПЦР, MALDI-TOF MS и NGS. Целью является оценка возможностей и ограничений этих технологий, а также обсуждение их потенциала для улучшения диагностики, лечения и контроля бактериальных инфекций.

Материалы и методы: Обзор выполнен на основе анализа научной литературы, включающей оригинальные статьи, обзоры, мета-анализы и клинические руководства. Поиск литературы проводился в электронных базах данных PubMed, Scopus, Web of Science и Google Scholar с использованием ключевых слов и их комбинаций, относящихся к молекулярной диагностике бактериальных инфекций, ПЦР, MALDI-TOF MS и NGS. Критериями отбора статей были релевантность теме, методологическая надежность и новизна представленных данных.

Результаты и обсуждение: ПЦР является высокочувствительным и специфичным методом, основанным на амплификации (многократном увеличении количества) специфической ДНК-мишени в образце. Это позволяет выявлять даже очень небольшие количества бактерий, что особенно важно при диагностике инфекций с низкой бактериальной нагрузкой. Преимущества ПЦР: Высокая чувствительность: ПЦР может выявлять единичные копии ДНК бактерий. Высокая специфичность: С использованием специфических праймеров ПЦР может различать близкородственные виды бактерий.





Быстрота: ПЦР занимает от нескольких часов до нескольких дней, что значительно быстрее, чем традиционные методы культивирования. Возможность выявления некультивируемых бактерий: ПЦР не требует культивирования бактерий, что позволяет выявлять микроорганизмы, которые трудно или невозможно вырастить в лабораторных условиях.

Ограничения ПЦР: Риск ложноположительных результатов: Загрязнение образца ДНК может приводить к ложноположительным результатам. Риск ложноотрицательных результатов: Ингибиторы ПЦР в образце или мутации в целевой области ДНК могут приводить к ложноотрицательным результатам. Невозможность определения жизнеспособности бактерий: ПЦР выявляет ДНК, независимо от того, живы или мертвы бактерии.

Ограниченное количество анализируемых мишеней: Стандартная ПЦР позволяет анализировать только несколько мишеней одновременно. Применение ПЦР в диагностике бактериальных инфекций: Выявление возбудителей инфекций, передающихся половым путем (ИППП): Хламидиоз, гонорея, трихомониаз.

Диагностика респираторных инфекций: Пневмония, бронхит, грипп. Выявление возбудителей менингита и энцефалита: *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus pneumoniae*. Мониторинг бактериальной нагрузки при инфекциях: ВИЧ-инфекция (мониторинг бактериальной транслокации). Результаты исследований: Многочисленные исследования продемонстрировали высокую эффективность ПЦР в диагностике бактериальных инфекций.

Например, в исследовании, опубликованном в журнале "Clinical Microbiology Reviews", было показано, что ПЦР позволяет выявлять *Mycobacterium tuberculosis* в образцах мокроты с чувствительностью 98% и специфичностью 99%. В другом исследовании, опубликованном в журнале "Journal of Clinical Microbiology", было показано, что мультиплексная ПЦР позволяет одновременно выявлять несколько возбудителей респираторных инфекций с высокой точностью.

Масс-спектрометрия с матрично-активированной лазерной десорбцией/ионизацией (MALDI-TOF MS): MALDI-TOF MS - это метод, основанный на анализе спектров белков бактерий.

Каждый вид бактерий имеет уникальный спектр белков, который можно использовать для идентификации. Преимущества MALDI-TOF MS: Быстрота: Идентификация бактерий занимает всего несколько минут. Низкая стоимость: MALDI-TOF MS является относительно недорогим методом по сравнению с



другими молекулярными методами. Высокая точность: MALDI-TOF MS позволяет идентифицировать широкий спектр бактерий с высокой точностью. Простота использования: MALDI-TOF MS является относительно простым методом для выполнения. Ограничения MALDI-TOF MS: Необходимость культивирования бактерий: MALDI-TOF MS требует предварительного культивирования бактерий. Ограниченная способность идентифицировать близкородственные виды: MALDI-TOF MS может испытывать трудности при идентификации близкородственных видов бактерий. Зависимость от качества библиотек спектров: Точность идентификации зависит от качества и полноты библиотек спектров. Применение MALDI-TOF MS в диагностике бактериальных инфекций: Идентификация бактерий, выращенных на питательных средах: Идентификация клинически значимых бактерий из различных источников (кровь, моча, раны и т.д.). Быстрая идентификация бактерий при сепсисе: MALDI-TOF MS позволяет быстро идентифицировать возбудителей сепсиса, что имеет решающее значение для назначения адекватной антибиотикотерапии. Идентификация грибов: MALDI-TOF MS также можно использовать для идентификации грибов. Результаты исследований: MALDI-TOF MS широко используется в клинических лабораториях для быстрой и точной идентификации бактерий. Исследования показали, что MALDI-TOF MS обладает высокой точностью при идентификации грамотрицательных и грамположительных бактерий. Например, мета-анализ, опубликованный в журнале "Journal of Clinical Microbiology", показал, что MALDI-TOF MS имеет чувствительность 96% и специфичность 98% при идентификации грамотрицательных бактерий. Секвенирование нового поколения (NGS): NGS - это технология, которая позволяет определять последовательность ДНК с высокой скоростью и производительностью. NGS можно использовать для идентификации бактерий, определения их антибиотикорезистентности и выявления новых патогенов. Преимущества NGS: Высокая производительность: NGS позволяет анализировать большое количество образцов одновременно. Обширная информация: NGS предоставляет информацию о ДНК бактерий, что позволяет идентифицировать бактерии, определять их антибиотикорезистентность и выявлять новые патогены. Возможность выявления смешанных инфекций: NGS позволяет выявлять несколько видов бактерий в одном образце. Не требует предварительного культивирования: NGS можно использовать для анализа образцов без предварительного





культивирования бактерий. Ограничения NGS: Высокая стоимость: NGS является относительно дорогостоящим методом. Сложность анализа данных: Анализ данных NGS требует специальных знаний и программного обеспечения. Длительное время выполнения: Подготовка образцов и анализ данных NGS могут занимать несколько дней. Риск получения ложноположительных результатов: Загрязнение образца ДНК может приводить к ложноположительным результатам. Применение NGS в диагностике бактериальных инфекций: Выявление возбудителей редких и необычных инфекций: NGS можно использовать для выявления бактерий, которые трудно или невозможно идентифицировать с помощью традиционных методов. Определение антибиотикорезистентности: NGS позволяет выявлять гены резистентности к антибиотикам, что помогает врачам выбрать наиболее эффективный препарат для лечения. Выявление новых патогенов: NGS можно использовать для выявления новых бактерий, которые могут вызывать инфекции. Мониторинг вспышек инфекций: NGS позволяет отслеживать распространение бактерий во время вспышек инфекций. Метагеномный анализ: Идентификация всего спектра бактериальных сообществ в образце (например, состав микробиома кишечника). Результаты исследований: NGS произвела революцию в области микробиологии, предоставив беспрецедентные возможности для изучения бактериальных инфекций.

Исследования показали, что NGS позволяет выявлять возбудителей инфекций, которые не обнаруживаются с помощью традиционных методов. Например, в исследовании, опубликованном в журнале "The Lancet Infectious Diseases", было показано, что NGS позволило выявить возбудителя менингита у пациента, у которого традиционные методы диагностики не дали результатов.

В другом исследовании было показано, что NGS позволяет быстро и точно определять гены резистентности к антибиотикам у бактерий, что помогает врачам выбрать наиболее эффективную терапию.

Молекулярные методы диагностики, такие как ПЦР, MALDI-TOF MS и NGS, значительно улучшили возможности диагностики бактериальных инфекций. ПЦР является быстрым, чувствительным и специфичным методом, который идеально подходит для выявления возбудителей распространенных инфекций. MALDI-TOF MS - это быстрый, дешевый и точный метод идентификации бактерий, выращенных на питательных средах. NGS - это мощный метод, который можно использовать для выявления возбудителей редких и



необычных инфекций, определения антибиотикорезистентности и выявления новых патогенов.

Однако важно отметить, что каждый из этих методов имеет свои преимущества и ограничения. При выборе метода диагностики необходимо учитывать клиническую ситуацию, доступность ресурсов и цели исследования.

В будущем следует ожидать дальнейшего развития молекулярных методов диагностики бактериальных инфекций, что приведет к еще более быстрой, точной и доступной диагностике.



Вывод: Инновационные молекулярные технологии, такие как ПЦР, MALDI-TOF MS и секвенирование нового поколения (NGS), играют все более важную роль в диагностике бактериальных инфекций. Эти методы позволяют быстро и точно идентифицировать бактериальных возбудителей, определять их чувствительность к антибиотикам и выявлять новые патогены.

Внедрение молекулярных методов диагностики в клиническую практику позволяет улучшить лечение пациентов, снизить распространение инфекций и предотвратить развитие устойчивости к антибиотикам.

Дальнейшее развитие и совершенствование этих технологий, а также их интеграция с традиционными методами микробиологической диагностики, будут способствовать значительному прогрессу в борьбе с бактериальными инфекциями.

## ЛИТЕРАТУРА:

1. E. L. Tsalik — обзоры по новым молекулярным подходам в диагностике бактериальных инфекций.
2. P. Gerner-Smidt (Gerner-Smidt) — автор работ по применению NGS в эпидемиологии и контроле бактериальных инфекций.
3. P. Lasch — статьи/работы по MALDI-TOF MS и базам спектров для идентификации бактерий.
4. A. Calderaro — мини-обзоры применимости MALDI-TOF в клинической микробиологии.
5. I. Bogdan — систематические обзоры по мультиплекс-ПЦР в клинической диагностике (пример: мультиплекс-ПЦР при COVID-выпадках и бактериях).
6. N. E. Putnam — публикации о широкодиапазонной (broad-range) ПЦР и секвенировании для выявления микробов прямо из клинических образцов.
7. P. T. Tassios — обзоры и руководства по использованию NGS в бактериальной диагностике.
8. A. Haider — обзор текущих применений MALDI-TOF MS в клинической диагностике.
9. T. Mortier — исследования по машинному обучению и идентификации видов с помощью MALDI-TOF.
10. E. De Carolis — ранние важные статьи по внедрению MALDI-TOF MS в лабораторную практику.
11. J. O. Sekyere — обзоры роли NGS и её трансформационного влияния на диагностику инфекций.
12. A. Jabłońska — систематические обзоры применения NGS в клинической микробиологии (педиатрическая практика и др.).
13. A. Liang — обзоры по таргетному NGS (tNGS) и клиническим приложениям.
14. M. Ashmi — обзоры по Immuno-PCR и его приложениям в диагностике бактериальных заболеваний.
15. J. Fluit — классические обзоры по молекулярной диагностике бактериальных патогенов и детекции антибиотикорезистентности.

