Офтальмохирургия. 2023;1: 97–102.
Fyodorov Journal of Ophthalmic Surgery. 2023;1: 97–102.

Обзор
УДК: 617.7
doi: 10.25276/0235-4160-2023-1-97-102

Современные технологии микробиологических исследований в офтальмологии. Часть 1

О.В. Шиловских[1], В.О. Пономарев[1], В.Н. Казайкин[1], А.Н. Куликов[2], Н.С. Демченко[1], К.А. Ткаченко[1], Я.Б. Бейкин[3], С.М. Розанова[3], М.В. Кырф[3]

[1]*Екатеринбургский центр МНТК «Микрохирургия глаза», Екатеринбург*
[2]*Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова, Санкт-Петербург*
[3]*Клинико-диагностический центр, Екатеринбург*

РЕФЕРАТ

Цель. Осветить современные микробиологические технологии идентификации микроорганизмов, такие как масс-спектрометрия, полимеразная цепная реакция (ПЦР), секвенирование, лазерное светорассеивание. **Материал и методы.** Для выполнения обзора был осуществлен поиск научных публикаций отечественных и зарубежных авторов на ресурсах PubMed, Medline, eLIBRARY с 2008 до 2021 г., посвященных существующим на настоящий момент методам идентификации микроорганизмов с акцентом на офтальмологическую микробиологическую диагностику. **Результаты.** Современные микробиологические технологии идентификации микроорганизмов способны оценивать не только присутствие патогена, но и фиксировать его жизнеспособность, степень вирулентности, реализуемые в настоящее время на основе современных технологий: масс-спектрометрии, ПЦР, секвенирования и др. **Заключение.** Представленные в обзоре микробиологические технологии позволяют обеспечить высокую скорость, производительность, достаточную чувствительность и экономическую доступность микробиологического анализа, способны увеличить вероятность положительного исхода проводимой терапии.

Ключевые слова: *идентификация микроорганизмов, полимеразная цепная реакция, секвенирование, масс-спектрометрия* ■

Для цитирования: Шиловских О.В., Пономарев В.О., Казайкин В.Н., Куликов А.Н., Демченко Н.С., Ткаченко К.А., Бейкин Я.Б., Розанова С.М., Кырф М.В. Современные технологии микробиологических исследований в офтальмологии. Офтальмохирургия. 2023;1: 97–102. doi: 10.25276/0235-4160-2023-1-97-102
Автор, ответственный за переписку: Константин Андреевич Ткаченко, kostyatka1996@gmail.com

ABSTRACT

Review

Modern technologies of microbiological research in ophthalmology. Part 1

O.V. Shilovskikh[1], V.O. Ponomarev[1], V.N. Kazaikin[1], A.N. Kulikov[2], N.S. Demchenko[1], K.A. Tkachenko[1], Ya.B. Beikin[3], S.M. Rozanova[3], M.V. Kyrf[3]

[1]*Eye Microsurgery Ekaterinburg Center, Ekaterinburg, Russian Federation*
[2]*Military Medical Academy named after S.M. Kirov, St. Petersburg, Russian Federation*
[3]*Clinical and Diagnostic Center, Ekaterinburg, Russian Federation*

Purpose. To highlight modern microbiological technologies for the identification of microorganisms as: mass spectrometry, polymerase chain reaction (PCR), sequencing, laser light scattering. **Material and methods.** To carry out the review, a search was carried out for scientific publications of domestic and foreign authors on the resources PubMed, Medline, eLIBRARY from 2008 to 2021, devoted to the currently existing methods of identifying microorganisms with an emphasis on ophthalmological microbiological diagnostics. **Results.** Modern microbiological technologies for the identification of microorganisms are able to assess not only the presence of the pathogen, but also to record its viability, the degree of virulence, currently implemented on the basis of modern technologies: mass spectrometry, polymerase chain reaction (PCR), sequencing and others. **Conclusion.** The microbiological technologies presented in the review make it possible to ensure high speed, productivity, sufficient sensitivity and economic availability of microbiological analysis, and are able to increase the probability of a positive outcome of the therapy.

Key words: *identification of microorganisms, polymerase chain reaction, sequencing, mass spectrometry* ■

For citation: Shilovskikh O.V., Ponomarev V.O., Kazaikin V.N., Kulikov A.N., Demchenko N.S., Tkachenko K.A., Beikin Ya.B., Rozanova S.M., Kyrf M.V. Modern technologies of microbiological research in ophthalmology. Part 1. Fyodorov Journal of Ophthalmic Surgery. 2023;1: 97–102. doi: 10.25276/0235-4160-2023-1-97-102
Corresponding author: Konstantin A. Tkachenko, kostyatka1996@gmail.com

АКТУАЛЬНОСТЬ

Основными задачами медицинской микробиологии в офтальмологии являются идентификация микроорганизмов, определение их клинической значимости и профиля устойчивости к антибиотикам (АБ) в максимально короткие сроки. При классическом культуральном исследовании результат получают на 3–7-е сутки после отбора материала. Клиническая значимость микробиологических исследований крайне важна, своевременное подтверждение бактериальной или грибковой этиологии процесса, определение *in vitro* чувствительности к АБ напрямую связано с эффективностью терапии, позволяет избежать функциональной и/или анатомической потери глаза как органа, в кратчайшие сроки помогает модифицировать терапию у пациентов с недостаточным клиническим ответом на лечение. Точная и быстрая диагностика улучшает клинические прогнозы, укорачивает сроки госпитализации и уменьшает расходы. Офтальмологи нуждаются в прогрессивных технологиях микробиологии, позволяющих за 24–48 ч идентифицировать возбудителя со спектром антибиотикорезистентности.

ЦЕЛЬ

Осветить современные микробиологические технологии идентификации микроорганизмов, такие как масс-спектрометрия, полимеразная цепная реакция (ПЦР), секвенирование, лазерное светорассеивание.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Для выполнения обзора был осуществлен поиск научных публикаций отечественных и зарубежных авторов на ресурсах PubMed, Medline, eLIBRARY с 2008 до 2021 г., посвященных существующим на настоящий момент методам идентификации микроорганизмов с акцентом на офтальмологическую микробиологическую диагностику.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Современные микробиологические технологии идентификации микроорганизмов

На сегодняшний день в микробиологии оправданно внедрение новых диагностических технологий с высокой скоростью и производительностью, с достаточной чувствительностью и экономической доступностью оценивающих присутствие патогена, его жизнеспособность и степень вирулентности. Основные технологии идентификации реализуются на основе нескольких подходов: иммунохимические реакции, полимеразная цепная реакция (ПЦР), секвенирование, лазерное светорассеяние, масс-спектрометрия. У каждого способа есть свои преимущества и недостатки [1].

На первом этапе исследования (индикация – выделение возбудителя) можно получить ответ об отсутствии или наличии бактериальной или микологической культуры в биоматериале.

Микроскопия нативного материала эффективна при высокой концентрации микроорганизмов в биоматериале – более 104 КОЕ/мл. Далее традиционный алгоритм предполагает посев содержимого витреальной полости и/или передней камеры, отделяемого конъюнктивы, роговичного соскоба и др. на пластинчатые питательные среды и инкубацию 18–48 ч. Альтернативой является посев на жидкие питательные среды микробиологических анализаторов, позволяющие снизить вероятность контаминации пробы и сократить время инкубации до 4–18 ч (BacT/ALERT bioMeriex; BACTECTM, Becton Dickinson, Phoenix Automated Microbiology System, Becton Dickinson; Signal, Oxoid; OmniLOG™, BIOLOG, MicroScan, Siemens Healthcare Diagnostics; VITEK, BioMerieux). Эти системы рассчитаны на объем жидкости от 1 мл, что важно в офтальмологии.

В настоящее время на рынке появились анализаторы, позволяющие исследовать малые объемы стерильных жидкостей от 0,2 мл, например при эндофтальмите, с инкубацией в среднем 3–4 ч (приборы HB&L Uroquattro Light, Alfred 60, Alifax, Италия), которые уже широко используются в мире. Принцип работы анализаторов – явление лазерного светорассеяния: микроорганизмы в жидкой среде рассеивают проходящий свет лазера. Методика позволяет определять микроорганизмы при первоначальной концентрации от 10 КОЕ/мл. Видовой спектр культивируемых бактерий, включает так называемые «прихотливые» микроорганизмы (*Haemophilus influenzae*, *Neisseria meningitidis*). Исследования показали высокую корреляцию результатов культурального роста на анализаторах с технологией Alifax с традиционными методами [2–5].

Второй этап микробиологических исследований связан с получением чистой культуры – высев на пластинчатые питательные среды для получения изолированных колоний микроорганизмов.

Для первичного посева наряду с традиционными средами, которые обеспечивают рост большого спектра микроорганизмов, при подозрении на определенные группы возбудителей можно использовать селективные, хромогенные среды, которые позволяют выделить и провести первичную идентификацию микроорганизмов через 16–18 ч и дать предварительный ответ клиническому врачу (Merck, CHROMagarTM, DRG, Bio-Rad). Такие среды позволяют обнаружить даже единичные мелкие колонии в сложных полимикробных культурах [6, 7].

Третий этап – видовая идентификация микроорганизмов изолированных колоний. Для идентификации изолятов используют биохимические тесты, в т.ч. с использованием селективных и хромогенных сред, иммунологические, молекулярно-биологические методы (протеомный анализ, ПЦР, секвенирование, масс-спектрометрия). В практических лабораториях преимущественно пользуются биохимическими тестам с использованием ручных методик или автоматизированных систем (MicroScan, Siemens HD; VITEK, ATB Expression BioMerieux; Phoenix Automated Microbiology System, Becton Dickinson; Signal, Oxoid; OmniLOG™, MicroStation, BIOLOG; SENSITITRE, TREK Diagnostic Systems). Применение микробиологических анализаторов позволяет значительно расширить спектр определяемых возбудителей, проводить одновременно оценку чувствительности к антибиотикам, сократить данный этап исследования с 18–20 до 6 ч. Подобные тест-системы значительно увеличивает себестоимость анализа, но это оправданно более надежной по сравнению с фенотипической идентификацией для всех бактериальных и грибковых изолятов глазных инфекций [8–10].

Масс-спектрометрия

В последние годы для идентификации микроорганизмов активно используется метод времяпролетной масс-спектрометрии с технологией матрицактивированной лазерной десорбции/ионизации (MALDI-TOF – Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization, Time-Of-Flight). Метод позволяет проводить детекцию бактерий и грибов по протеиновому профилю. Время исследования 96 образцов с пробоподготовкой – менее 30 мин [11, 12].

Масс-спектрометрический анализ (MS-анализ) предполагает измерение и регистрацию отношения массы заряженных частиц веществ (ионов) к их заряду (m/z).

В рутинной практике микробиологический образец смешивается с реагентом (матрицей), суспензия на специализированные пластинах помещается в масс-спектрометр, в котором бомбардируется короткими импульсами лазера, происходят десорбция и ионизация биомолекул и разделение по их индивидуальной характеристике – соотношению массы к заряду. В итоге на детекторе формируется уникальный спектр, который сравнивается с базой (библиотекой) данных спектров различных микроорганизмов. Референсные базы данных содержат информацию о 2500–2900 видах микроорганизмов и 5600–8300 их штаммов, данные постоянно обновляются. И в ряде случаев есть возможность более детальной токсономической идентификации до вида, в сравнении с биохимическими тестами определения лишь рода некоторых бактерий [10]. MS-анализ – уникальный, высокоэффективный, точный, экономичный метод идентификации микроорганизмов, перспективный, получивший широкое распространение в клинической микробиологии. Простота позволяет применять методику в рутинных исследованиях многопрофильных стационаров [12–16].

Существует и ряд сложностей с идентификацией некоторых бактерий. Например, невозможно идентификации *S. pneumoniae* в связи с высоким сходством белкового профиля различных видов α-гемолитических стрептококков [18]. Есть трудности с идентификацией бактерий из типа *Actinobacteria*, родов *Kosuria*, *Nocardia*, *Shigella*, *Streptococcus* и некоторые других [14, 17].

Проведение MS-анализа возможно без предварительного культивирования, но с экстракцией из образца (кровь, моча, мокрота, ликвор, гной и т.д.) микробных протеинов по определенным методикам, если в исследуемом объеме образца содержится не менее $5 \cdot 10^5$ бактерий, а для типа *Actinobacteria* – не менее 10^6 клеток [1, 14, 20].

Необходимость внедрения MALDI-TOF MS идентификации микроорганизмов в практику клинической микробиологии в том числе для офтальмологических больных определяется высокой диагностической эффективностью метода, экономической целесообразностью, быстротой получения результатов и простотой методологией исследований [10, 13, 21].

Наиболее широко используемыми коммерчески доступными являются системы MALDI-TOF MS: Microflex LT/SH MALDI-TOF, MALDI Biotyper (Bruker) и VITEK MS (bioMérieux) [22, 23].

Полимеразная цепная реакция

Идентификация микроорганизмов ПЦР в различных модификациях используется в микробиологии более 25 лет. ПЦР, несмотря на быструю специфическую идентификацию возбудителя, до настоящего времени не получил широкого распространения из-за ряда недостатков. ПЦР имеет самый высокий процент положительного результата, особенно изначально нестерильного биоматериала, например при кератите, в случаях с отрицательными результатами посева или микроскопии мазка первичного биоматериала, так как амплифицируется материал не только живых патогенов, но и остаточных количеств нуклеиновых кислот погибших микроорганизмов. В то же время ПЦР эффективен и экономически оправдан для определения антибиотикорезистентности [24].

Ряд исследователей на офтальмологическом материале показывают выделение большего количества возбудителей методом ПЦР в сравнении с фенотипической идентификацией, указывают на ценность ПЦР анализа у пациентов с начатой антибиотикотерапий, которая препятствует качественному культивированию микроорганизмов. Рекомендуют совмещать культуральные методы с ПЦР-диагностикой возбудителей. Такие данные будут ценными для ретроспективного анализа изучении факторов и условий распространения тех или иных возбудителей глазных инфекции в различных популяциях. Но к таким результатам нужно относится критически в клинической практике, так как полученное ДНК может быть дериватами погибших микроорганизмов, не имеющих практического значения в лечении пациента на этапе получения результата данной диагностики методом ПЦР [25–28]. По этой причине, в ряде стран метод ПЦР не был разрешен в целях диагностики для соскобов роговицы. Таким образом, ПЦР не рекомендуется как самостоятельный метод рутинной диагностики инфекционного кератита, необходимо предварительное выделение чистой культуры микроорганизмов другими методами.

Тем не менее ПЦР-исследование полезно для обнаружения и последующей идентификации грибковой ДНК в соскобах роговицы или внутриглазных жидкостей, что позволяет начать противогрибковую терапию на ранней стадии заболевания [1, 29–31]. ПЦР незаменима для диагностики вирусов и простейших [25, 32, 33].

На современном этапе для качественной идентификации широкого спектра микроорганизмов (бактерий, грибов, вирусов, простейших) методика ПЦР представлена в формате биочипов (биологических микрочипов). Биочип – матрица из тысяч микроячеек с нанесенными на них молекулярными зондами для одновременного анализа большого числа искомых биомолекул. Зондами могут служить олигонуклеотиды, участки геномной ДНК, РНК, олигосахариды, антитела, различные низкомолекулярные соединения и др.

Недостаток технологии биочипов – длительная пробоподготовка (24–48 ч) и приборная амплификация нуклеиновых кислот в пробах, что снижает практическую значимость метода в неотложных клинических случаях в офтальмологии. Технологически метод постоянно совершенствуется, последние модификации, представленные в формате microarray-чипов, дают результаты в более короткие сроки (4–8 ч), но остаются дорогостоящими. При этом диагностические возможности методики достаточно широки. Например, одна из базовых платформ компании PathGEN Dx (Сингапур) выпускает генетический чип для клинических исследований PathGEN® PathChip. Он совмещается с системой анализа GeneChip® System (Affymetrix, США), которая позволяет идентифицировать около 20 тыс. бактерий [34]. Другой производитель, Livermore National Laboratory – LLNL (США), предлагает microarray-инстументы для определения 2195 видов вирусов и 24 видов бактерий [32]. Недавно компания LLNL заявила о тестировании нового поколения microarray-чипов для определения 5700 вирусов, нескольких тысяч бактерий, нескольких сотен грибов и 75 простейших. В России лидером разработки microarray-устройств является Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, где были успешно сконструированы чип-инструменты для идентификации микобактерий, хламидий, микоплазм, вирусов гриппа, гепатитов, цитомегаловируса, вирусов иммунодефицита человека [25, 33].

Секвенирование

Биочипы усовершенствовали еще один инструмент молекулярно-генетических исследований – секвенирование, сделав его доступным для идентификации микроорганизмов без их предварительного культивирования. Секвенирование подразумевает определение последовательности нуклеотидов нуклеиновых кислот с целью идентификации микроорганизмов.

Полногеномное или высокопроизводительное секвенирование последнего поколения, NGS-технология (от англ. Next generation sequencing – секвенирование следующего/нового поколения) позволяет определять микроорганизмы в смешанной культуре менее чем за сутки по профилю рибосомальной РНК [35]. Весьма интересной для клинической микробиологии является чип-система подготовки биологического материала для полупроводникового секвенирования Access Array IFC (Fluidigm Corporation, США), прибор MiSeq (Illumina, США) и др. Данная система анализа позволяет обнаружить и идентифицировать в исследуемом материале все клинически значимые микроорганизмы, оценить их вирулентные и резистентные свойства. Принципиальным достоинством биочипов является одновременная идентификация множества видов в одном образце, в том числе непосредственно в биоматериале от пациента [1, 36].

Технология секвенирования постоянно эволюционирует. В настоящий момент существуют методы секвенирования третьего поколения (NNGS). От предшествующей NGS-технология их отличают: более простая процедура пробоподготовки, не требуется предварительной амплификации анализируемых фрагментов нуклеиновых кислот методом ПЦР, более короткое время анализа, нет необходимости многочисленных повторных секвенирований для устранения ошибок прочтения генома. NNGS-технология реализована на платформе SMRT (Pacific Biosciences) на основе секвенирования через нанопоры [19].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Сегодня технологии микробиологии шагнули далеко вперед. С учетом «молниеносной» скорости распространения патологического процесса переднего и заднего отрезков глазного яблока, современные микробиологические подходы должны быть направлены на сокращение диагностического этапа до 6–12 ч, только в таком случае можно говорить о высокой вероятности положительного исхода проводимой этиотропной терапии.

На сегодняшний день данные подходы активно организовываются между современными микробиологическими центрами, гражданскими и военными офтальмологическими службами РФ для улучшения здоровья и качества жизни ее граждан, а также способствуют снижению нагрузки на современное здравоохранение. Результаты данных организационных мероприятий будут изложены в следующих работах авторов.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Баранов А.А., Маянский А.Н., Чеботарь И.В., Маянский Н.А. Новая эпоха в медицинской микробиологии. Вестник РАН. 2015;85(1): 1008–1016. [Baranov AA, Mayansky AN, Chebotar IV, Mayansky NA. A new era in medical microbiology. Bulletin of the Russian Academy of Sciences. 2015;85(1): 1008–1016. (In Russ.)]

2. Станкевич Д.С. Технология Alifax: ускорение рутинного бактериологического анализа. Лабораторная служба. 2016;5(1): 6–688. [Stankevich DS. Halifax technology: acceleration of routine bacteriological analysis. Laboratory service. 2016;5(1): 6–688. (In Russ.)] doi: 10.17116/labs2016516

3. Alonso B, Latorre MK, Cruces R, Ampuero D, Guembe M. Evaluation of the Alfred™ turbidity monitoring system (Alifax®) following sonication in the diagnosis of central venous catheter colonization. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2019;38(9): 1737–1742. doi: 10.1007/s10096-019-03606-y

4. Giordano S, Piccoli E, Brucculeri V, Bernini S. Prospective evaluation of two technologies of rapid phenotypic sensitivity to antimicrobials for the diagnosis of sepsis. Biomed Res Int. 2018;2018: 6976923. doi: 10.1155/2018/6976923

5. Боронина Л.Г., Саматова Е.В. Применение технологии лазерного светорассеивания для диагностики катетер-ассоциированнных инфекций. Клиническая лабораторная диагностика. 2019;64(8): 503–506. [Boronina LG, Samatova EV. Application of laser light scattering technology for the diagnosis of catheter–associated infections. Clinical laboratory diagnostics. 2019;64(8): 503–506. (In Russ.)] doi: 10.18821/0869-2084-2019-64-8-503-506

6. Шепелин А.П., Храмов М.В., Полосенко О.В., Марчихина И.И. Современные подходы к разработке отечественных питательных сред. Национальные приоритеты России. 2014;3(13): 69–71. [Shepelin AP, Khramov MV, Polozenko OV, Machikhina II, Sholokhova LP. Modern approaches to the development of domestic nutrient media. National priorities of Russia. 2014;3(13): 69–71. (In Russ.)]

7. Полосенко О.В. Перспективы применения хромогенных питательных сред. Инновации в медицинской, фармацевтической, ветеринарной и экологической микробиологии. Всероссийская научно-практическая конференция. 2017. [Polosenko OV. Prospects for the use of chromogenic nutrient media. Innovations in medical, pharmaceutical, veterinary and environmental microbiology. All-Russian Scientific and Practical Conference. 2017. (In Russ.)]

8. Romanowski JE, Nayyar ShV, Romanowski EG, Jhanji V. Antibiotic susceptibilities of coagulase negative staphylococci isolated from ocular infections. 2021;10(6): 721. doi: 10.3390 /antibiotics10060721

9. Hernández-Durán M, López-Jácome LE, Colín-Castro CA, et al. Comparison of the microscan walkaway plus and VITEK 2 compact systems for the identification and susceptibility of clinical Gram-positive and Gram-negative bacteria. Investigación en Discapacidad. 2017;6(3):105–114.

10. LaCroce SJ, Wilson MN, Romanowski JE, Newman JD. Moraxella nonliquefaciens and M.osloensis are important Moraxella species that cause ocular infections. 2019. doi: 10.3390/microorganisms7060163

11. Giordano S, Piccoli E, Brucculeri V, Bernini S. Prospective evaluation of two technologies of rapid phenotypic sensitivity to antimicrobials for the diagnosis of sepsis. Biomed Res Int. 2018;2018: 6976923. doi: 10.1155/2018/6976923

12. Чеботарь И.В., Пономаренко О.А., Лазарева А.В., Карасева О.В. Использование MALDI-TOF-технологии для идентификации возбудителей септических состояний в педиатрической практике. Современные технологии в медицине. 2015;7(2): 68–73. [Chebotar IV, Ponomarenko OA, Lazareva AV, Karaseva OV. The use of MALDI-TOF technology for the identification of pathogens of septic conditions in pediatric practice. Modern technologies in medicine. 2015;7(2): 68–73. (In Russ.)]

13. Cornwell E, Daniel R, et al. Evaluation of matrix-assisted laser desorption ionisation time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS) for the Identification of Group B Streptococcus. BMC Res Notes. 2019;12(1): 85. doi: 10.1186/s13104-019-4119-1

14. Чеботарь И.В., Поликарпова С.В., Бочарова Ю.А., Маянский Н.А. Использование времяпролетной масс-спектрометрии с матрично активированной лазерной десорбцией/ионизацией (MALDI-TOF MS) для идентификации бактериальных и грибковых возбудителей III–IV групп патогенности. Лабораторная служба. 2018;2: 78–86. [Chebotar IV, Polikarpova SV, Bocharova YuA, Mayansky NA. The use of time-of-flight mass spectrometry with matrix-activated laser desorption/ionization (MALDI-TOF MS) for the identification of bacterial and fungal pathogens of groups III–IV pathogenicity. Laboratory service. 2018;2: 78–86. (In Russ.)] doi: 10.17116/labs20187278-86

15. Приптуневич Т.В., Мелкумян А.Р., Любасовская Л.А., Муравьева В.В. Масс-спектрометрия в микробиологической практикенаучного центра акушерства, гинекологии и перинатологии. Микробиология. 2016;1: 52–58. [Priputnevich TV, Melkumyan AR, Lyubasovskaya LA, Muravyeva VV. Mass spectrometry in microbiological practice of the Scientific Center of Obstetrics, Gynecology and Perinatology. Microbiology. 2016;1: 52–58. (In Russ.)]

16. Баранцевич Е.П., Баранцевич Н.Е. Применение MALDI-TOF МАСС-спектрометрии в клинической микробиологии. Трансляционная медицина. 2014;3: 23–28. [Barantsevich EP, Barantsevich NE. Application of MALDI-TOF MASS spectrometry in clinical microbiology. Translational medicine. 2014;3: 23–28. (In Russ.)]

17. Patel R. MALDITOF MS for the diagnosis of infectious diseases. Clinical Chemistry. 2015;61: 100–111.

18. Краснов Я.М., Гусева Н.П., Шарапова Н.А., Черкасов А.В. Современные методы секвенирования ДНК (обзор). Проблемы особо опасных инфекций. 2014;2: 73–79. [Krasnov YaM, Guseva NP, Sharapova NA, Cherkasov AV. Modern methods of DNA sequencing (review). Problems of particularly dangerous infections. 2014;2: 73–79. (In Russ.)]

19. Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам. Межрегиональная ассоциация по клинической микробиологии и антимикробной химиотерапии. Клинические рекомендации. Версия 2018-03. Доступно по: https://www.antibiotic.ru/files/321/clrec-dsma2018.pdf [Ссылка активна на 31.01.2023] [Determination of the sensitivity of microorganisms to antibacterial drugs. Interregional Association for Clinical Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy. Clinical recommendations. Version 2018-03. Available from: https://www.antibiotic.ru/files/321/clrec-dsma2018.pdf [Accessed 31st January] (In Russ.)]

20. Kok J, Thomas LC, Olma T, et al. Identification of bacteria in blood culture broths using matrixassisted laser desorptionionization Sepsityper™ and time of flight mass spectrometry. PloS one. 2011;6(8): e23285.

21. Rohilla R, Meena S, Mohanty A, Gupta N, et al. Etiological spectrum of infectious keratitis in the era of MALDI-TOF-MS at a tertiary care hospital. J Family Med Prim Care. 2020;9(9): 4576–4581. doi: 10.4103/jfmpc.jfmpc_630_20

22. Byun JH, Yu AR, Kim MS, Lee K. Performance of microflex LT biotyper and VITEK MS for routine identification of yeasts. Ann Lab Med. 2018;38: 487–489. doi: 10.3343/alm.2018.38.5.487

23. Singhal N, Kumar M, Kanaujia PK, Virdi JS. MALDI-TOF mass spectrometry: an emerging technology for microbial identification and diagnosis. Front Microbiol. 2015;6: 791. doi: 10.3389/fmicb.2015.00791

24. Боронина Л.Г., Саматова Е.В., Кукушкина М.П., Асновская А.Г. Поиск рационального алгоритма тестирования карбапенемаз у грамотрицательных бактерий на современном этапе. Проблемы медицинской микробиологии. 2021;23(2): 62. [Boronina LG, Samatova EV, Kukushkina MP, Sosnovskaya AG. Search for a rational algorithm for testing

carbapenemases in gram-negative bacteria at the present stage. Problems of medical microbiology. 2021;23(2): 62. (In Russ.)]

25. Gryadunov D, Dementieva E, Mikhailovich V, et al. Gelbased microarrays in clinical diagnostics in Russia. Exp Rev Mol Diagn. 2011;11: 839–853.

26. Tananuvat N, Salakthuantee K, Vanittanakom N, Pongpom M. Prospective comparison between conventional microbial work-up vs PCR in the diagnosis of fungal keratitis. Eye (London). 2012;26(10): 1337–1343. doi: 10.1038/eye.2012.162

27. Somerville TF, Corless CE, Sueke H, Neal T, Kaye SB. 16S ribosomal RNA PCR versus conventional diagnostic culture in the investigation of suspected bacterial keratitis. Transl Vis Sci Technol. 2020 Dec;9(13): 2. doi: 10.1167/tvst.9.13.2

28. Chiquet Ch, Cornut P-L, Benito Y, Thuret G. Eubacterial PCR for bacterial detection and identification in 100 acute postcataract surgery endophthalmitis. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2008;49: 1971–1978. doi: 10.1167/iovs.07-1377

29. Maharana PK, Sharma N, Nagpal R, Jhanji V. Recent advances in diagnosis and management of Mycotic Keratitis. Indian J Ophthalmol. 2016; 64(5): 346–357. doi: 10.4103/0301-4738.185592

30. Thomas PA, Teresa PA, Theodore J. PCR for the molecular diagnosis of mycotic keratitis. Rev Mol Diagn. 2012;12: 703–718.

31. Vengayil S, Panda A, Satpathy G, Nayak N. Polymerase chain reaction-guided diagnosis of mycotic keratitis: a prospective evaluation of its efficacy and limitations. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2009;50: 152–156.

32. Gardner SN, Jaing CJ, McLoughlin KS, Slezak TR. A microbial detection array (MDA) for viral and bacterial detection. BMC Genomics. 2010;11: 1–21.

33. Заседателев А.С., Михайлович В.М., Грядунов Д.А. и др. Применение биочипов в лабораторной медицине. Клиническая лабораторная диагностика. 2008;9. [Assessors AS, Mikhailovich VM, Grydunov DA, et al. Application of biochips in laboratory medicine. Clinical laboratory diagnostics. 2008;9. (In Russ.)]

34. Simões EA, Patel C, Sung WK, Lee CW, Loh KH, Lucero M, Nohynek H, Nai G, Thien PL, Koh CW, Chan YS, Ma J, Maurer-Stroh S, Carosone-Link P, Hibberd ML, Wong CW; ARIVAC Consortium. Pathogen chip for respiratory tract infections. J Clin Microbiol. 2013;51(3):945-53. doi: 10.1128/JCM.02317-12.

35. Salipante SJ, Kawashima T, Rosenthal C, et al. Perfomance comparison of illumina and ion torrent next generation sequencing platforms for 16S rRNA based bacterial community profiling. Appl Environ Microbiol. 2014;80: 7583– 7591.

36. Руднов В.А., Багин В.А., Бельский Д.В., Астафьева М.Н. Современный портрет вентилятор-ассоциированной инфекции нижних дыхательных путей: этиология и проблемы диагностики. Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2021;23(1): 17–25. [Rudnov VA, Bagin VA, Belsky DV, Astafyeva MN. Modern portrait of ventilator-associated lower respiratory tract infection: etiology and diagnostic problems. Clinical microbiology and antimicrobial chemotherapy. 2021;23(1): 17–25. (In Russ.)] doi: 10.36488/cmac.2021.1.17-25

Информация об авторах

Олег Владимирович Шиловских, к.м.н., врач-офтальмохирург, 2310161@mail.ru, https://orcid.org/0000-0003-4931-8266

Вячеслав Олегович Пономарев, к.м.н., врач-офтальмохирург, ponomarev-mntk@mail.ru, https://orcid.org/0000-0002-2353-9610

Виктор Николаевич Казайкин, д.м.н., врач-офтальмохирург, victor-ru66@mail.ru, https://orcid.org/0000-0001-9569-5906

Алексей Николаевич Куликов, д.м.н., профессор, врач-офтальмохирург, alexey.kulikov@mail.ru

Надежда Сергеевна Демченко, к.м.н., врач клинической лабораторной диагностики, medichkan@mail.ru, https://orcid.org/0000-0002-5196-2168

Константин Андреевич Ткаченко, врач-офтальмолог, kostyatka1996@gmail.com, https://orcid.org/0000-0001-8593-9364

Яков Борисович Бейкин, заслуженный врач РФ, д.м.н., профессор, действительный член РАЕН, inbox@kdc-lab.ru

Софья Марковна Розанова, к.м.н., доцент, rsm@kdc-lab.ru

Марина Валерьевна Кырф, врач-бактериолог, flame.teddy@gmail.com

Information about the authors

Oleg V. Shilovskikh, PhD in Medicine, Ophthalmic Surgeon, 2310161@mail.ru, https://orcid.org/0000-0003-4931-8266

Vyacheslav O. Ponomarev, PhD in Medicine, Ophthalmic Surgeon, ponomarev-mntk@mail.ru, https://orcid.org/0000-0002-2353-9610

Victor N. Kazaikin, Doctor of Medical Sciences, Ophthalmic Surgeon, victor-ru66@mail.ru, https://orcid.org/0000-0001-9569-5906

Aleksey N. Kulikov, Doctor of Medical Sciences, Professor, Ophthalmic Surgeon, alexey.kulikov@mail.ru

Nadezhda S. Demchenko, PhD in Medicine, Doctor of Clinical Laboratory Diagnostics, medichkan@mail.ru, https://orcid.org/0000-0002-5196-2168

Konstantin A. Tkachenko, Ophthalmologist, kostyatka1996@gmail.com, https://orcid.org/0000-0001-8593-9364

Yakov B. Beikin, Honored Doctor of the Russian Federation, Doctor of Medical Sciences, Professor, full member of the Russian Academy of Natural Sciences, inbox@kdc-lab.ru

Sofia M. Rozanova, Candidate of Medical Sciences, Associate Professor, rsm@kdc-lab.ru

Marina V. Kyrf, bacteriologist, flame.teddy@gmail.com

Вклад авторов в работу:

О.В. Шиловских: редактирование окончательное утверждение версии, подлежащей публикации.
В.О. Пономарев: написание текста, редактирование, окончательное утверждение версии, подлежащей публикации.
В.Н. Казайкин: редактирование, окончательное утверждение версии, подлежащей публикации.
А.Н. Куликов: редактирование, окончательное утверждение версии, подлежащей публикации.
Н.С. Демченко: написание текста, редактирование.
К.А. Ткаченко: редактирование.
С.М. Розанова: редактирование.
М.В. Кырф: редактирование.

Authors' contribution:

O.V. Shilovskikh: editing, final approval of the version to be published.
V.O. Ponomarev: writing, editing, final approval of the version to be published.
V.N. Kazaikin: editing, final approval of the version to be published.
A.N. Kulikov: editing, final approval of the version to be published.
N.S. Demchenko: writing, editing.
K.A. Tkachenko: editing.
S.M. Rozanova: editing.
M.V. Kyrf: editing.

Финансирование: Авторы не получали конкретный грант на это исследование от какого-либо финансирующего агентства в государственном, коммерческом и некоммерческом секторах.
Согласие пациента на публикацию: Письменного согласия на публикацию этого материала получено не было. Он не содержит никакой личной идентифицирующей информации.
Конфликт интересов: Отсутствует.

Funding: The authors have not declared a specific grant for this research from any funding agency in the public, commercial or not-for-profit sectors.
Patient consent for publication: No written consent was obtained for the publication of this material. It does not contain any personally identifying information.
Conflict of interest: There is no conflict of interest.

Поступила: 29.11.2022
Переработана: 22.01.2022
Принята к печати: 14.02.2023

Originally received: 29.11.2022
Final revision: 22.01.2022
Accepted: 14.02.2023