

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ПАРАМЕТРОВ ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНЫХ ТЕРМОГРАММ БАКТЕРИЙ *E. COLI* И *S. AUREUS* С ПОЗИЦИИ УСКОРЕННОГО ИХ ОБНАРУЖЕНИЯ И ДИФФЕРЕНЦИАЦИИ

Драпеза А.И., Чекир Д.В., Плешко Н.В., Лобан В.А., ¹Скорород Г.А.,
¹Гудкова Е.И.

Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь
¹Белорусский государственный медицинский университет,
Минск, Беларусь

Ускоренное обнаружение и дифференциация микроорганизмов является одной из актуальных проблем прикладной микробиологии.

Учитывая тот факт, что бактерии вырабатывают тепло, которое в среднем составляет 1-3 пкВт на клетку, а современные изотермические микрокалориметры позволяют обнаруживать менее одного микроватта в изменениях мощности, открывается уникальная возможность обнаружения и дифференциации вида жизнеспособных бактерий по профилю термограмм практически в реальном времени по микробиологическим меркам [1].

В настоящей работе представлены результаты исследований по сравнительному анализу параметров различных типов дифференциальных термограмм микроорганизмов *E.coli* и *S.aureus* с позиции их ускоренного обнаружения и дифференциации.

Для проведения исследований использовались популяции микроорганизмов *E.coli* и *S.aureus*, питательные среды: ТСБ и 5% раствор глюкозы. Методики приготовления соответствующих тест-культур микроорганизмов, а также методы и условия измерения дифференциальных тер-

мограмм различного типа были одними и теми же для используемых популяций микроорганизмов и достаточно подробно описаны в работе [2]. Измерения дифференциальных термограмм тест-культур проводились при температурах 30°C и 37°C каждую секунду в течение 3400 секунд. Для проведения сравнительного анализа их параметров были использованы результаты измерений, полученные за период 2400-3400 секунд. Генеральная совокупность значений, получаемых в процессе измерений, статистически обрабатывалась для количества точек $n=1000$ с надежностью $\alpha=95\%$. После чего проводилось усреднение параметров однотипных термограмм для $n=3$ и $\alpha=90\%$.

В расчет для сравнительного анализа при выполнении математических операций (суммирование, вычитание) над значениями различных типов дифференциальных термограмм, информативность которых представлена в виде математического ожидания и доверительных интервалов, принимались наиболее невыгодные для дифференциации случаи определения ошибки косвенных измерений. Считалось, что абсолютная ошибка суммы или разности косвенных измерений равна сумме ошибок прямых измерений.

Характерным при проведении данных экспериментов является то, что динамика поведения различного типа дифференциальных термограмм остается однотипной от эксперимента к эксперименту, проводимых в различные дни. В тоже время для различных экспериментов наблюдается определенный разброс значений исходных уровней дифференциальных термограмм, что может быть обусловлено особенностями изменения состава и динамики образования различных продуктов метаболизма в питательной среде в процессе односуточного роста бактерий, которые использовались для проведения экспериментов. Такой разброс может проявляться через фильтрат и/или различное количество бактерий, участвующих в метаболизме. Поэтому в расчет принимались только те эксперименты, в которых высев из измерительных ячеек с живыми и убитыми микроорганизмами был соответственно положительным и отрицательным.

Для проведения сравнительного анализа параметров дифференциальных термограмм бактерий *E.coli* и *S.aureus*, с позиции их ускоренного обнаружения и дифференциации, усредненные результаты исследований были использованы для получения разностных значений температуры дифференциальных термограмм для живых микроорганизмов *E.coli* и *S.aureus*, в зависимости от типа среды и значения ее температуры. Результаты косвенных измерений представлены в табл.1.

Табл. 1 - Разностные значения термограмм для живых микроорганизмов *E.coli*, *S.aureus* в зависимости от типа среды и значения ее температуры

Микро- орга- низмы	Разность значений температуры дифференциальных термограмм, °С			
	ТСБ		5% раствор глюкозы	
	Тип термограмм		Тип термограмм	
	«среда-среда + Ж)» – «среда – среда», 30 °С	«среда-среда Ж)» – «среда – среда», 37 °С	«среда-среда Ж)» – «среда – среда», 30 °С	«среда-среда +Ж)» – «среда – среда» 37 °С
<i>E.coli</i>	0,016±0,002	– 0,031±0,002	– 0,006±0,002	0,030±0,002
<i>S.aureus</i>	0,022±0,002	0,015±0,002	– 0,023±0,002	0,015±0,002

Из табл. 1 видно, что при температуре 30°С в среде ТСБ бактерии *E.coli* и *S.aureus* проявляют экзотермический характер метаболизма, разностные значения температуры дифференциальных термограмм которых статистически различимы для ($n=3, \alpha=90\%$). При температуре 37°С в среде ТСБ бактерии *E.coli* изменяют характер метаболизма на эндотермический относительно температуры 30°С. При данной температуре практически в 2 раза по модулю увеличивается разностное значение дифференциальной температуры для *E.coli*. Для бактерий *S.aureus* характер метаболизма не изменяется на противоположный при температуре 37°С, но при данной температуре происходит уменьшение величины разностного значения температуры дифференциальных термограмм, которая статистически существенно отличается от аналогичной величины при температуре 30 °С.

В 5% растворе глюкозы при температуре 30 °С бактерии *E.coli* и *S.aureus* проявляют однотипный эндотермический характер метаболизма, который при температуре 37°С также однотипно проявляется как экзотермический. Причем по модулю данные разностные значения в 5% растворе глюкозы статистически различаются при температуре 30 °С и 37°С. Однако от температуры различия разностных значений по модулю для бактерий *E.coli* в 2,5 раза больше относительно бактерий *S.aureus* в 5% растворе глюкозы, чем в среде ТСБ. Для бактерий *S.aureus* нет статистического различия разностных значений от типа среды и температуры.

Таким образом, сравнительный анализ параметров дифференциальных термограмм бактерий *E.coli* и *S.aureus* показывает, что данные бактерии удается статистически достоверно обнаружить в течение 3400 секунд, используя для этого в качестве информативного параметра разностные значения температуры дифференциальных термограмм, питательные

среды ТСБ или 5% раствор глюкозы (предпочтительнее), а регистрацию термограмм проводить при температуре 30 °С и/или 37 °С.

Литература

1. Zaharia D., Muntean A., Popa M. /Comparative analysis of Staphylococcus aureus and Escherichia coli microcalorimetric growth // ВМС Microbiology. - 2013.- №13(171).- Р. 2-14.
2. Драпеза А.И., Плешко Н.В., Лобан В.А., Скороход Г.А., Гудкова Е.И., Метод дифференциальных термограмм на основе микротерморезисторов для ускоренной оценки жизнеспособности бактериальной популяции E.coli // Вестник БГУ.-2015.- Сер. 1, №1.-С. 30-36.