Сравнительный спектральный анализ разных штаммов стрептококков, выращенных на агаризированных средах

© *Е.В. Тимченко*[1], *П.Е. Тимченко*[1], *А.В. Лямин*[2], *К.А. Каюмов*[2], *И.В. Бажутова*[2], *Д.Г. Глубоков*[2], *Л.Т. Волова*[2], *Ю.Д. Итяксов*[1]

[1] Самарский национальный исследовательский университет им. акад. С.П. Королева, Самара, Россия
[2] Самарский государственный медицинский университет, Самара, Россия
E-mail: yura.ityaksov97@mail.ru

Поступило в Редакцию 30 апреля 2026 г.
В окончательной редакции 8 июня 2026 г.
Принято к публикации 23 октября 2026 г.

Представлены результаты экспериментальных исследований на основе сравнительного анализа разных штаммов стрептококков методом спектроскопии комбинационного рассеяния света. Исследовано 25 штаммов стрептококков (7 штаммов *Streptococcus mitis*, 11 штаммов *Streptococcus oralis* и 7 штаммов *Streptococcus pneumoniae*). Установлены спектральные различия между исследуемыми штаммами, которые обусловлены особенностями строения и функционирования исследуемых штаммов патологических бактерий.

Ключевые слова: спектроскопия комбинационного рассеяния света, штаммы стрептококков, статистический анализ, патогенные штаммы.

DOI: 10.61011/PJTF.2026.23.63999.9610k

В настоящее время *Streptococcus* являются основными возбудителями распространенных стоматологических заболеваний, таких как кариес и пародонтит. Помимо стоматологических проблем со стрептококками связано огромное количество инфекций человека иных локализаций. *Streptococcus* обладают определенным набором факторов патогенности, наличие которых позволяет стрептококкам вызывать ту или иную патологию в тропных клетках, тканях, органах и системах макроорганизма [1,2].

Среди различных штаммов *Streptococcus* наибольшее значение в медицинской практике имеет *Streptococcus pneumoniae*. Данный условно-патогенный микроорганизм является одним из самых распространенных возбудителей внебольничной пневмонии, а также способен вызывать другие внелегочные осложнения [3].

К иным представителям рода *Streptococcus* относятся *Streptococcus mitis* и *Streptococcus oralis*, которые в норме составляют здоровую микробиоту ротовой полости. Данные штаммы в большинстве случаев не способны вызывать заболевания человека и лишь в исключительных случаях иммунодефицита приводят к развитию различной инфекционной патологии [4].

Благодаря современным методам диагностики, таким как MALDI-ToF масс-спектрометрия, идентификация микроорганизмов стала значительно более быстрой, дешевой и точной. Однако для некоторых штаммов, в том числе *Streptococcus mitis, Streptococcus oralis* и *Streptococcus pneumoniae*, рутинная идентификация при помощи данного метода остается затруднительной вследствие схожести протеомного профиля данных микроорганизмов [5].

Одним из методов дифференциации стрептококков может стать спектроскопия комбинационного рассеяния (КР) света, которая получила широкое распространение в других биомедицинских задачах [6,7].

Целью исследования является сравнительный анализ спектров комбинационного рассеяния света различных штаммов представителей *Streptococcus*, выращенных на агаризированных средах.

В исследовании использовались 25 различных штаммов стрептококков: 7 штаммов *Streptococcus mitis*, 11 штаммов *Streptococcus oralis* и 7 штаммов *Streptococcus pneumoniae*.

Исследование проводилось в течение девяти месяцев.

Штаммы стрептококков были получены из различного клинического материала, поступающего в микробиологический отдел КДЛ Клиник Самарского государственного медицинского университета. Поступивший первичный биоматериал рассевался на плотные питательные среды согласно российским рекомендациям по клинической микробиологии „Методы посева биоматериала на питательные среды, документ 3/25“ (2025). После инкубации в течение 24 h выросшие изолированные колонии идентифицировались методом MALDI-ToF масс-спектрометрии на приборе MicroflexLT (Bruker, Германия). Для всех штаммов, идентифицированных как *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus oralis и Streptococcus mitis*, осуществлялась постановка оптохинового теста с оптохиновыми дисками для идентификации *Streptococcus pneumoniae*. Для дифференциации штаммов *Streptococcus oralis и Streptococcus mitis* использовался пиковый анализ масс-спектров согласно известному протоколу с использованием программного обеспечения FlexAnalysis 3.3 (Bruker, Германия).

Затем изолированные колонии идентифицированных штаммов переносились на агар Мюллера–Хинтона с добавлением 5% бараньей крови (HiMedia, Индия) и

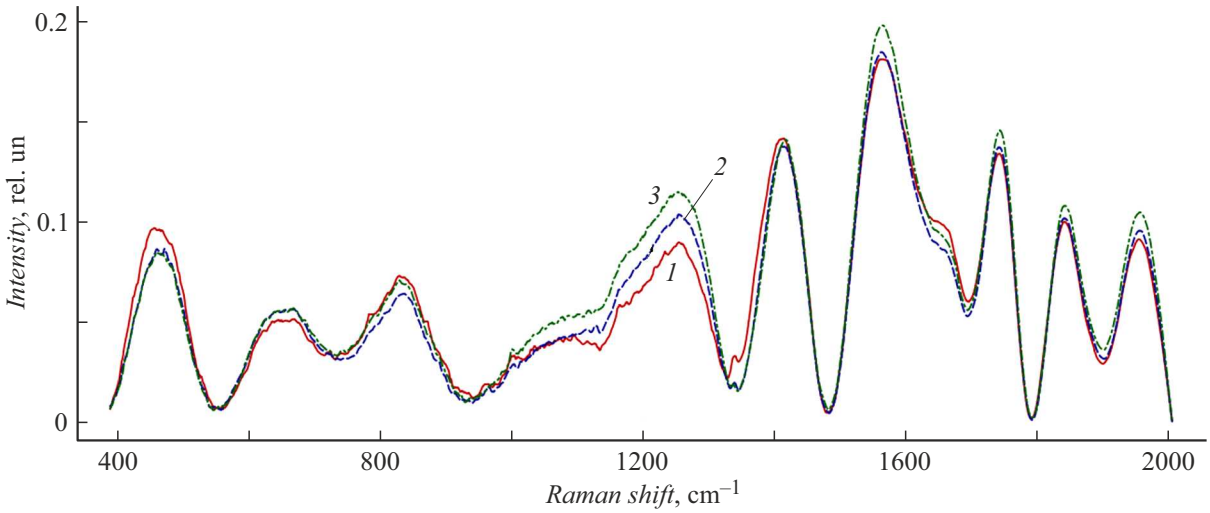


Рис. 1. Усредненные спектры комбинационного рассеяния света исследуемых объектов. *1 — Streptococcus mitis, 2 — Streptococcus oralis, 3 — Streptococcus pneumoniae.*

рассевались методом Дригальского. Культивирование осуществлялось в течение 24 h при температуре 37 °C в микроаэрофильных условиях (5–7 % CO_2). Выросшая биомасса бактерий стерильной одноразовой петлей переносилась в стерильную пробирку типа Эппендорф и затем транспортировалась в течение часа в лабораторию Самарского университета для спектроскопического исследования.

Исследования проводились с помощью экспериментального стенда, реализующего метод спектроскопии комбинационного рассеяния света, подробно описанного в работе [8]. Экспериментальный стенд включал в себя полупроводниковый лазер (LML-785.0RB-04), оптический модуль комбинационного рассеяния света (PBL 785), спектрограф (Sharmrock SR-303i) с интегрированной цифровой камерой (ANDOR DV-420A-OE), охлаждаемой до −60 °C, и компьютер.

Математическая обработка полученных спектров КР проводилась в программном комплексе Wolfram Mathematica 12.2. Для исключения вклада автофлуоресценции в спектре КР использовали метод вычитания флуоресцентной составляющей полиномиальной аппроксимации с дополнительной фильтрацией случайных шумовых эффектов [9].

Дополнительно был проведен линейный дискриминантный анализ.

Усредненные спектры исследуемых образцов представлены на рис. 1. Видно, что спектры КР исследуемых образцов имеют схожий характер. Однако можно заметить (рис. 1), что штамм стрептококков *Streptococcus mitis* спектрально отличается от двух других исследуемых патогенных штаммов (*Streptococcus oralis* и *Streptococcus pneumoniae*) на линиях КР $\sim 484\,\text{cm}^{-1}$ (Glycogen), $\sim 1280\,\text{cm}^{-1}$ (Amide III & CH_2 wagging vibrations from glycine back bone & proline side chains), $\sim 1330\,\text{cm}^{-1}$ (Typical phospholipids), причем интенсивность линий КР, соответствующих гликогену и фосфолипидам, в спектрах штамма *Streptococcus mitis* выше, чем в других штаммах стрептококков. Это, вероятно, связано с высокой метаболической активностью в отношении гликогена, который *Streptococcus mitis* способны запасать в больших количествах (до 50 % сухой массы клетки) [10].

В то же время из рис. 1 можно видеть, что интенсивность линии КР, соответствующая глицину, выше в штаммах *Streptococcus oralis* и *Streptococcus pneumoniae*.

На рис. 2 приведены результаты статистического анализа. Представлены результаты LDA (linear discriminant analysis) сравнения трех групп исследуемых образцов. Чем выше по модулю значение главного компонента LD-1 для переменной, тем в большей степени она определяет разницу в дискриминационной модели между группами образцов. Так, для группы образцов *Streptococcus mitis* относительная интенсивность линий, указанных в области LD-1 от −6 до 0, выше, чем для других групп. Для группы образцов *Streptococcus oralis* значения LD-1 находятся в диапазоне положительных значений 0–4. Для группы *Streptococcus pneumoniae* значения LD-1 находятся в диапазоне от −2 до 2.

Чувствительность и специфичность идентификации разных штаммов стрептококков составили в среднем 60 и 80 % соответственно.

В результате проведенных исследований и линейного дискриминантного анализа были установлены спектральные различия между исследуемыми штаммами стрептококков, которые проявляются на линиях КР $\sim 484\,\text{cm}^{-1}$ (Glycogen), $\sim 1280\,\text{cm}^{-1}$ (Amide III & CH_2 wagging vibrations from glycine back bone & proline side chains), $\sim 1330\,\text{cm}^{-1}$ (Typical phospholipids) и обусловлены особенностями строения и метаболизма исследуемых штаммов бактерий.

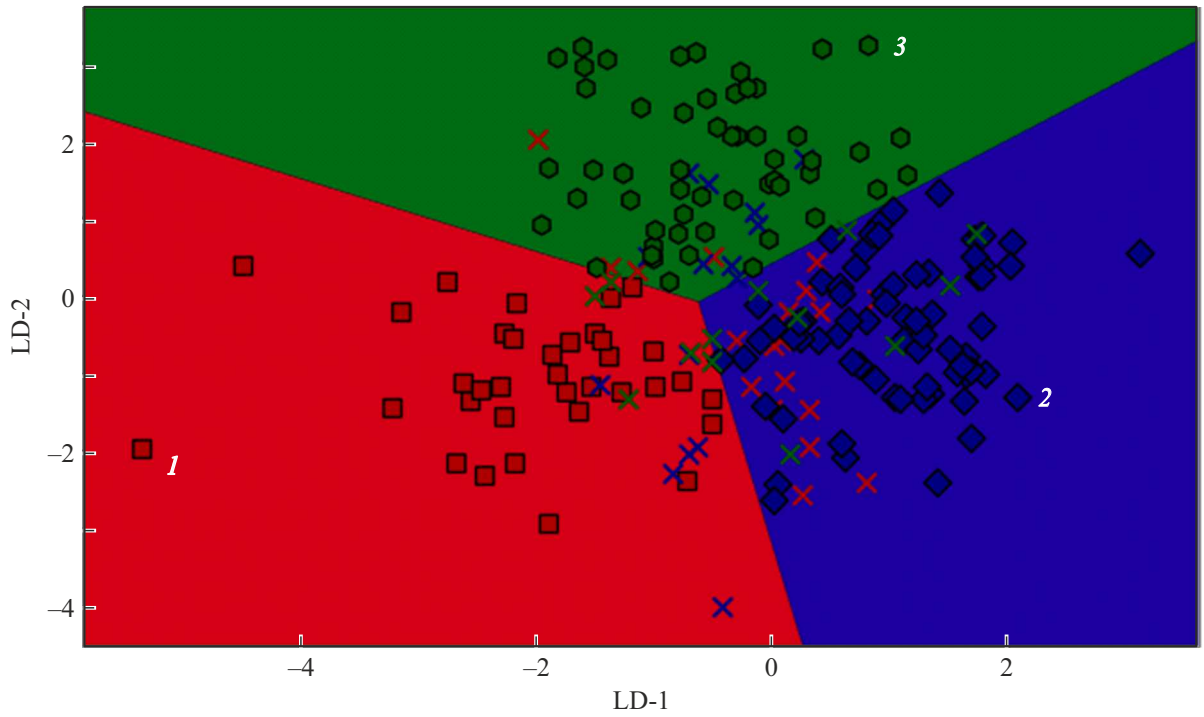


Рис. 2. Линейно-дискриминантный анализ исследуемых групп. *1 — Streptococcus mitis, 2 — Streptococcus oralis, 3 — Streptococcus pneumoniae*. Крестиками обозначены точки, попавшие не в свои области.

Показано, что метод спектроскопии комбинационного рассеяния света может быть успешно применен для дифференциации штаммов стрептококков.

В дальнейшем полученные результаты могут быть использованы в качестве предпосылки для создания прибора-анализатора для дифференциации штаммов стрептококков.

Конфликт интересов

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

Список литературы

[1] И.В. Бажутова, Д.Д. Исматуллин, А.В. Лямин, Д.А. Трунин, А.В. Жестков, В.А. Разумный, Инфекция и иммунитет, **12** (1), 51 (2022). DOI: 10.15789/2220-7619-CSO-1698
[2] В.Г. Абрамов, *Колонизация полости рта и ее влияние на лизоцим-антилизоцимные взаимоотношения в экосистеме при кариесе*, автореф. канд. дис. (Волгогр. гос. мед. ун-т, Волгоград, 2007).
[3] J.C. Paton, C. Trappetti, Microbiol. Spectr., **7** (2) (2019). DOI: 10.1128/microbiolspec.GPP3-0019-2018
[4] А.Ю. Пестов, А.В. Панченко, Вестн. ВолгГМУ, **8** (4), 62 (2011). https://old.volgmed.ru/uploads/journals/articles/1360912510-vestnik-2011-4-1341.pdf
[5] J.H. Chen, K.K. She, O.Y. Wong, J.L. Teng, W.C. Yam, S.K. Lau, P.C. Woo, V.C. Cheng, K.Y. Yuen, J. Clin. Pathol., **68** (8), 652 (2015). DOI: 10.1136/jclinpath-2014-202818
[6] K.A. Esmonde-White, G.S. Mandair, F. Raaii, J.A. Jacobson, B.S. Miller, A.G. Urquhart, B.J. Roessler, M.D. Morris, J. Biomed. Opt., **14** (3), 034013 (2009). DOI: 10.1117/1.3130338
[7] A.M. Gonchar, V.V. Gerasimov, N.G. Gavrilov, B.A. Knyazev, in *Proc. of the 29th Int. Free Electron Laser Conf. (FEL 2007)* (Novosibirsk, 2007), p. 86–88.
[8] И.В. Бажутова, П.Е. Тимченко, Е.В. Тимченко, Д.А. Трунин, Д.Г. Глубоков, Л.Т. Волова, О.О. Фролов, А.М. Хамадеева, Кубан. науч. мед. вестн., **32** (5), 64 (2025). DOI: 10.25207/1608-6228-2025-32-5-64-73
[9] O.O. Frolov, P.E. Timchenko, E.V. Timchenko, L.T. Volova, J. Biomed. Photon. Eng., **10** (3), 030303 (2024). DOI: 10.18287/JBPE24.10.030303
[10] H.J. Van, H.M. Jansen, J. Bacteriol., **101** (3), 1083 (1970). DOI: 10.1128/jb.101.3.1083-1085.1970