

Сравнение физических характеристик и эффективности взятия биоматериала медицинскими аппликаторами

Аннотация

Пандемия коронавирусной инфекции COVID-19 вызвала резкий рост потребности в производстве расходных материалов, применяемых для лабораторной диагностики, одним из которых является аппликатор (тампон), предназначенный для взятия биоматериала, а от его качества сильно зависит достоверность теста. Целью работы являлось проведение экспериментальных исследований по оценке физических и эксплуатационных свойств медицинских аппликаторов волокнистого типа. В работе было проведено сравнение аппликаторов ведущих производителей, традиционно считающихся эталоном качества, представленных на российском рынке в сегменте премиум-класса: «Coran Diagnostics» (Италия), «Puritan Medical Products» («РМР») (США), «ФармМедПолис» («ФМП») (Россия). Были проведены исследования величины абсорбции, дзета-потенциала, морфологии поверхности при помощи сканирующего электронного микроскопа, а также способность взятия и высвобождения биоматериала. Исследования показали, что коэффициент извлечения отличается для различных образцов аппликаторов. На примере культуры клеток *Streptococcus pneumoniae* установлено, что для аппликатора «Coran Diagnostics» $KI = 78,3\%$, для аппликатора «Puritan Medical Products» $KI = 84,15\%$, для аппликатора «ФМП» $KI = 87,49\%$, для аппликатора «HydraFlock»® $KI = 93,72\%$. Установлена общая превосходная эффективность тампона «HydraFlock»®, основанная на высокой способности абсорбировать воду и белок, а также на высокой степени извлечения бактерий. Второе место занимает аппликатор «ФармМедПолис»®, третье – образец компании «Coran» и четвертое – нейлоновый образец «Puritan Medical Products».

Введение

Эффективность обнаружения вирусов, клеток и белков сильно зависит от эффективности сбора биоматериала, его сохранности при транспортировке и восстановлении из питательной среды. Несмотря на то что аспираты, жидкости организма и образцы тканей являются наиболее эффективными для первичного посева, взятие пробы при помощи аппликатора часто используется в качестве метода, применяемого при уходе за пациентами или проведении тестов [1]. Особенно актуально это стало в условиях глобальной пандемии коронавирусной инфекции COVID-19, вызванной коронавирусом SARS-CoV-2. Пандемия вызвала резкий рост потребности в производстве расходных материалов, применяемых для лабораторной диагностики, одним из которых является аппликатор (тампон), предназначенный для взятия биоматериала, а от его качества сильно зависит достоверность теста. Так как диагностическая чувствительность клинического теста зависит от количества клеток, собранных и выпущенных аппликатором, существует постоянная потребность в правильном отборе образцов для надежной и точной диагностики.

На рынке сейчас имеются аппликаторы различных производителей широкого ценового диапазона, и столь большое разнообразие требует их сравнительной оценки. Существующие аппликаторы выполнены из различных материалов и отличаются своими физическими свойствами, которые сильно влияют на способность взятия биоматериала и его сохранность. Можно выделить два основных типа: первый – вспененного типа, имеющие открытую ячеистую структуру из полимерного материала; второй – волокнистого типа, в котором реализуется капиллярный эффект, они хорошо впитывают, удерживают, а затем и высвобождают влагу, микробы, антигены и нуклеиновые кислоты. В свою очередь, аппликаторы волокнистого типа можно подразделить на аппликаторы первого поколения, когда рабочая часть аппликатора изготовлена из прядильных волокон (вискоза, дакрон, хлопок), и аппликаторы второго поколения, когда на рабочую часть при помощи технологии флокирования нанесено полимерное волокно, которое находится под углом 90° к поверхности стержня аппликатора. Считается, что только небольшая часть организмов, собранных на традиционных тампонах из прядильного волокна, может быть восстановлена. Ронах L. с соавторами [2] продемонстрировали, что тампон вспененного типа извлекает на $\geq 30\%$ больше спор *Bacillus anthracis* Sterne, чем вискозный и полиэфирный тампоны, что объяснялось захватом организмов между волокнами. Установлено, что первый тип, к сожалению,

уступает второму и обладает минимальными показателями захвата биоматериала при взятии клинических образцов и проб [3]. Помимо физической структуры, на восстановление влияет химический состав материала тампона. Dalmaso G. с соавторами [4] также сообщили о значительных различиях между нейлоновым тампоном и тампоном из искусственного волокна в их способности восстанавливать различные бактерии и грибки.

Идеальный тампон должен собирать много клеток и обеспечивать их высвобождение в среду, демонстрируя при этом соответствие требованиям директивы для предполагаемого использования, как указано производителем. Поскольку волокна, используемые в головке тампона, находятся в прямом контакте с организмом, подлежащим извлечению из места отбора пробы, конструкция тампона также играет важную роль. Эффективная конструкция мазка увеличивает количество восстанавливаемых диагностических образцов. Это имеет первостепенное значение, учитывая множество различных патологических агентов, которые опосредуют болезненные состояния; существует потребность в эффективном сборе клинического образца для точного диагноза. Известны способы нанесения на рабочую часть аппликатора покрытий биополимерами, такими как альгинат или белки, для улучшения сбора и стабилизации чувствительных организмов [5]-[8].

Поэтому целью рассматриваемой работы является проведение экспериментальных исследований по оценке физических и эксплуатационных свойств медицинских аппликаторов волокнистого типа.

Методы исследования

В работе исследовались аппликаторы ведущих производителей, традиционно считающихся эталоном качества, представленных на российском рынке в сегменте премиум-класса. Это три производителя: «Coran Diagnostics» (Италия), «Puritan Medical Products» («РМР») (США), «ФармМедПолис» («ФМП») (Россия). В исследовании использовались аппликаторы трех производителей с нейлоновым ворсом, а также были проведены испытания аппликатора «HydraFlock»® компании «РМР».

Исследование абсорбции

Для измерения абсорбции использовалась методика определения поглощенной жидкости посредством взвешивания. Производилось предварительное взвешивание аппликатора, а далее его помещали в жидкую среду на 15 с. В качестве жидкости использовали дистиллированную воду и 22%-ный раствор

бычьей сыворотки альбумина. Помимо удерживания влаги, также было произведено измерение ее поглощения самим материалом (волокном), находящимся на рабочем конце аппликатора. Для этого волокно срезали с поверхности аппликатора, взвешивали и помещали в пробирку типа Эппендорф. В пробирку добавляли 0,5 мл дистиллированной воды, проводили взбалтывание и выдержку в течение 2 мин. Далее пробирку помещали в центрифугу на 5 мин при 10 000 об/мин, удаляли остатки при помощи промокашки. Данную процедуру проводили три раза. После этого производили взвешивание волокон и определяли процент поглощения белка.

Изучение микроструктуры при помощи сканирующего электронного микроскопа

Для оценки сбора материала при помощи сканирующего электронного микроскопа «Carl Zeiss EVO 50» были проведены исследования морфологии поверхности волокна после взятия проб из суспензии, состоящей из микрошариков. Микроскоп позволял проводить исследования при низком и высоком вакууме и получать изображения с увеличением от $\times 100$ до $\times 3000$. После взятия проб для оценки степени выхода материала проводился анализ до и после промывки в дистиллированной воде в течение 5 с и последующей сушки. Так как полимерные образцы имеют тенденцию накапливать электростатический заряд, что сильно мешает получению качественных изображений, проводилось напыление проводящего золотого палладиевого слоя.

Измерение дзета-потенциала

Измерение дзета-потенциала волокон аппликатора проводилось прибором «Photocor Compact-Z» («Фотокор», Россия). Для этого волокна срезали с кончика аппликатора, измельчали и приготавливали суспензию из раствора KCl с изменением pH от 3 до 9. Около 200 мг волокон аппликатора помещали в цилиндрическую стеклянную ячейку на 3 мин и далее проводили измерение.

Исследование культуры клеток

В исследованиях культуры клеток использовали *Streptococcus pneumoniae*. Для исследования культуры использовали тридцать проб. Статистическая значимость разницы между средними значениями сравнивалась при помощи теста «Tukey-Kramer Honestly Significant Difference» [9]. Инкубацию культур проводили в течение 24 ч при 37 ± 1 °C. Далее были отобраны несколько хорошо изолированных колоний и перенесены в пробирку, в которой имелись 5 мл 0,85%-ного стерильного физиологического раствора (pH 6,8). Мутность бактериальной суспензии доводили до 0,5 стандарта МакФарланда ($1,5 \cdot 10^8$ КОЕ/мл). Чтобы обеспечить впитывание жидкости и прилипание бактерий к головке тампона, испытываемый аппликатор помещали в стеклянную пробирку на 10 с в 5 мл бактериальной суспензии ($\sim 10^7$ КОЕ/мл). Аппликаторы удаляли из бактериальной суспензии, выдерживали на воздухе в течение 60 с, переносили в среду для разбавления и встряхива-

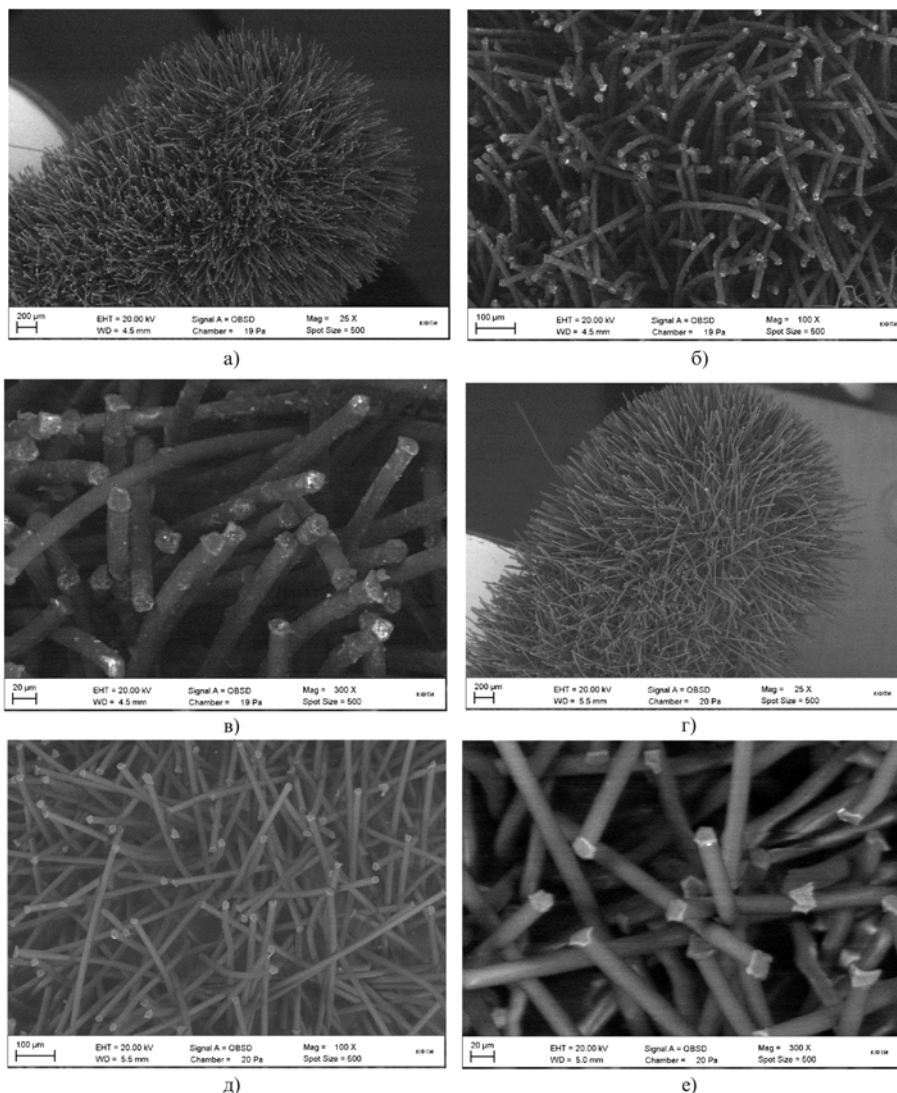


Рис. 1. СЭМ-изображения кончиков аппликаторов: (а), (в), (д) «Сорап»; (б), (г), (е) «ФМП»

ли в течение 15 с для высвобождения бактерий. После этого проводили разведение жизнеспособных организмов в среде для разведения (А). Количественное определение жизнеспособных организмов проводили путем распределения образцов в двух экземплярах для каждого разведения в питательной среде (В).

Бактерии культивировали при 5 % CO₂, среда для разбавления – 0,85%-ный физ. раствор, питательная среда – кровяной агар.

На основании полученной информации проводили вычисление коэффициента извлечения (КИ):

$$КИ = \frac{\text{Коэффициент разбавления} \times A}{\text{Коэффициент разбавления} \times B} \times 100 \%$$

Результаты

Способность поглощения воды исследованных аппликаторов составила от 18,8 до 21,3 %. В этой группе аппликатор «HydraFlock»® продемонстрировал наилучшее водопоглощение, второе место с незначительным отрывом занял образец «ФМП» со значением 20,8 % (табл. 1).

Таблица 1

Сравнение способностей образцов к поглощению воды и белка

Название образца	Абсорбция воды, %		Абсорбция белка, %
	Образец	Волокно	Образец
«HydraFlock»®	21,3	613	19,3
Нейлон «РМР»	19,6	537	17,9
Нейлон «Сорап»	20,1	585	17,4
«ФМП»®	20,8	592	18,7

Способность поглощения белка была хуже по сравнению с водой и составляет от 17,4 до 19,3 %. В данном случае аппликатор «HydraFlock»® показал максимальный результат, а наихудший результат был у «Сорап». Как видно из экспериментов, именно тип волокна и его свойства являются основными характеристиками при абсорбции жидкостей.

На рис. 1 представлены СЭМ-изображения исследуемых образцов волокон аппликаторов.

Захват и высвобождение полимерных шариков изучали и качественно оценивали с использованием модельной системы для имитации бактерий. Аппликатор «HydraFlock»® показал хорошую способность собирать шарики, но это оказалось и минусом, так как выход шариков был меньше, чем у других образцов. При 1000-кратном увеличении у волокон аппликатора «HydraFlock»® наблюдается расслоение структуры на 20...30 отдельных тонких волокон, длина которых составляет от 10 до 30 мкм. Остальные три образца по своей морфологии схожи друг с другом и состоят из нейлоновых волокон.

На рис. 2 представлены зависимости дзета-потенциалов исследуемых образцов волокон аппликаторов от кислотности среды. Так, для волокон «HydraFlock»®, «Нейлон «РМР» и «ФМП»® дзета-потенциал имеет только отрицательные значения, постепенно уменьшающиеся с увеличением pH, а для «Нейлон «Сорап» с увеличением pH наблюдается переход от положительного значения (при pH от 3 до 6) к отрицательному (при pH от 6 до 9).

Правильный сбор, хранение и транспортировка биоматериалов не должны недооцениваться и являются важными составляющими качественной системы здравоохранения. Поэтому оценка эксплуатационных свойств аппликаторов необходима для понимания возможных рисков получения хорошего клинического образца, требующегося для эффективной диагностики при лабораторном анализе. Несмотря на то что самым эффективным является использование непосредственно экссудатов и аспиратов жидкостей, взятие мазков при помощи аппликаторов получило широкое распространение из-за высокого удобства и практичности использования. Оценка эксплуатационных свойств аппликаторов включает в себя исследование абсорбции, собирательной способности, сохранения влаги, дзета-потенциала. Все эти параметры непосредственно влияют на сбор и высвобождение бактерий, возможность поддерживать жизнеспособность при транспортировке до лаборатории. Поглощение воды включает в себя две составляющие: несвязанную воду, которая покрывает волокна, и связанную, которая впитывается в материал или каким-либо другим способом удерживается на поверхности. Данный параметр определяется химическим составом, микроструктурой и полярностью поверхности.

Известным фактом является наличие плохих гидрофильных свойств у синтетических волокон, поэтому ведущие производ-

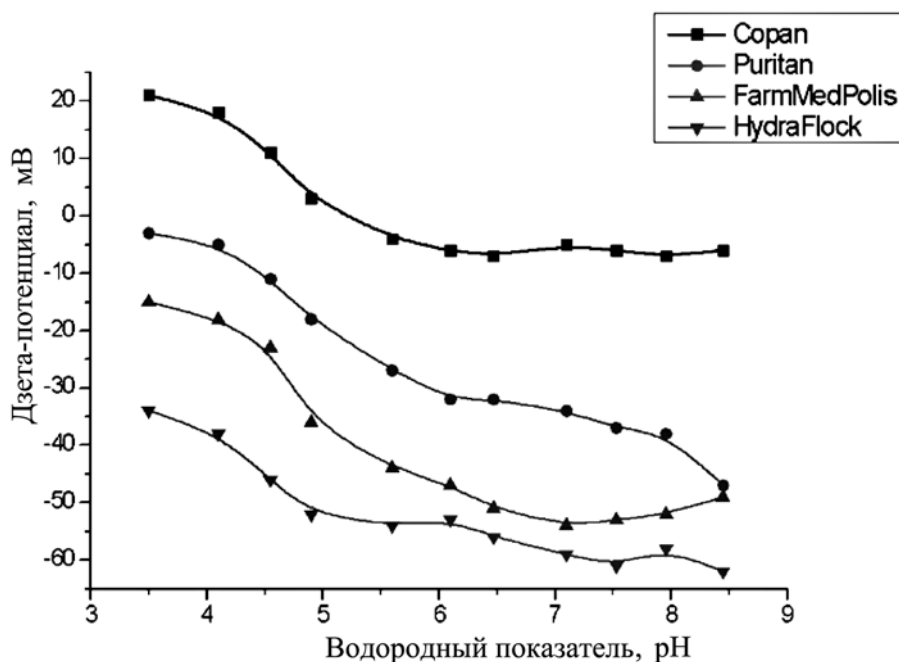


Рис. 2. Зависимости дзета-потенциалов исследуемых образцов волокон аппликаторов от кислотности среды

дители аппликаторов разрабатывают и внедряют специальные технологии повышения данного показателя. Водопоглощающая способность аппликатора играет важную роль при извлечении бактерий и других микроорганизмов, она может достигаться путем капиллярных эффектов, а водоудержание необходимо для предотвращения эффекта обезвоживания. Исследования показали явную зависимость дзета-потенциала образцов от pH среды и совершенно разные значения для различных производителей. Это может быть связано с различием в химическом составе волокон, а также в обработке их поверхности. Знак дзета-потенциала описывает природу электростатического потенциала вблизи поверхности частицы: если он достаточно большой, то короткодействующих притягивающих сил Ван-дер-Ваальса будет недостаточно. Более высокое значение дзета-потенциала волокон аппликатора будет приводить к отталкиванию, а это, в свою очередь, может привести к меньшему захвату бактерий.

Анализ СЭМ-изображений выявил морфологические и структурные различия между разными аппликаторами. Следует отметить следующую особенность аппликатора «HydraFlock»®: волокно на своих кончиках имеет расслоение и тем самым обеспечивает эффективный сбор микроорганизмов. Остальные образцы волокон «Нейлон «РМР», «Нейлон «Соран» и «ФМП»® имели схожую морфологию.

Экспериментальные исследования показали, что коэффициент извлечения (КИ) отличается для различных образцов аппликаторов. На примере культуры клеток Streptococcus pneumoniae установлено, что для аппликатора «Соран Diagnostics» КИ = 78,3 %, для аппликатора «Puritan Medical Products» КИ = 84,15 %, для аппликатора «ФМП» КИ = 87,49 %, для аппликатора «HydraFlock»® КИ = 93,72 %. Ключевым выводом данной работы является определение рейтинга аппликаторов. Установлена общая превосходная эффективность тампона «HydraFlock»®, основанная на высокой способности абсорбировать воду и белок, а также на высокой степени извлечения бактерий. Второе место занимает аппликатор «ФармМедПолис»®, третье – образец компании «Соран» и четвертое – нейлоновый образец «Puritan Medical Products».

Список литературы:

1. Harry K., Madhusudhan K. Effect of protein coating of locked swabs on the collection and release of clinically important bacteria // Indian Journal of Medical Microbiology. 2014. Vol. 32. № 3. PP. 301-303.
2. Rose L., Jensen B., Peterson A., Banerjee S.N., Arduino M.J. Swab materials and Bacillus anthracis spore recovery from nonporous surfaces // Emerging Infectious Diseases. 2004. Vol. 10. № 6. PP. 1023-1029.

3. Verhoeven P., Grattard F., Carricajo A., Pozzetto B., Berthelot P. Better detection of Staphylococcus aureus nasal carriage by use of nylon locked swabs // Journal of Clinical Microbiology. 2010. № 48. PP. 4242-4244.
4. Dalmaso G., Bini M., Paroni R., Ferrari M. Qualification of highrecovery, flocked swabs as compared to traditional rayon swabs for microbiological environmental monitoring of surfaces // PDA Journal of Pharmaceutical Science and Technology. 2008. № 62. PP. 191-199.
5. Ross P.W. The isolation of Streptococcus pyogenes from throat swabs // Journal of Medical Microbiology. 1977. № 10. PP. 69-76.
6. Norrod P., Williams R.P. Stability and viability of Neisseria gonorrhoeae in various solutions and buffers // Applied and Environmental Microbiology. 1979. № 37. PP. 293-297.
7. Hirschman J.S., Perry J.L. Modification of swab applicators providing full compliance with NCCLS standard M40-A / 104th ASM General Meeting in New Orleans. LA. – Washington: ASM Press, 2004. P. 164.
8. Jerris R.C., Jarrett D.K., Cherney W. Comparison of StartSwb II with BD culture MaxV (+) transport systems for preservation of bacterial pathogens important in pediatric medicine: Hemophilus influenzae, Streptococcus pneumoniae, and Neisseria meningitidis / ASM 105th General Meeting in Atlanta, GA. – Washington: ASM Press, 2005. P. 300.
9. Sall J., Creighton L., Lehman A. JMP Statistics: A guide to statistics and data analysis using JMP / NC. USA, SAS Publishing, 2007. PP. 5-600.

Рамиль Наилевич Кашипов,
канд. техн. наук, доцент,
кафедра биомедицинской инженерии
и управления инновациями,
ФГАОУВО «Казанский (Приволжский)
федеральный университет»,
г. Казань,

Александр Николаевич Цибин,
гл. внештат. специалист по клинич. диагностике,
ГБУЗ «НИИ организации здравоохранения
и медицинского менеджмента ДЗМ»,
г. Москва,
e-mail: pr@pharmmedpolis.com

ВНИМАНИЮ ПОДПИСЧИКОВ, РУКОВОДИТЕЛЕЙ СЛУЖБ ИНФОРМАЦИИ И БИБЛИОТЕК!

ПРЕДЛАГАЕМ ПОДПИСАТЬСЯ НА ЖУРНАЛ «МЕДИЦИНСКАЯ ТЕХНИКА»

НА 2021 ГОД.

В редакции можно оформить и оплатить льготную подписку с любого месяца.

Стоимость подписки : 1500 руб. – за один номер,
4500 руб. – на второе полугодие 2021 года (3 номера), 9000 руб. – на 2021 год (6 номеров).

Наши тел.: (495) 695-10-70, 695-10-71.