

РАЗРАБОТКА И ОЦЕНКА ПРОТОКОЛА ИДЕНТИФИКАЦИИ *BRUCELLA SPP.* МЕТОДОМ ПЦР

Г.Д. Абишева¹, Е.С. Шевцова¹, А.Д. Каиржанова¹,
Т.Б. Кариебаев², И.И. Сытник², С.Б. Тюлегенов²,
А.Б. Шевцов¹, К.К. Муқанов¹

¹ РГП Национальный центр биотехнологии, Астана, Казахстан

² РГП Национальный референтный центр по ветеринарии,
Астана, Казахстан

Бруцеллез — инфекционная болезнь, поражающая животных всех видов, а также человека, и представляющая собой серьезную проблему для здравоохранения и животноводства. Ранняя диагностика играет ключевую роль в борьбе с бруцеллезом. Наряду с серологическими методами, в практике используются методы прямого обнаружения возбудителя бактериологическими методами и методом ПЦР. В данной работе представлены результаты исследований по разработке ПЦР протокола идентификации бруцелл и его апробации.

В работе были использованы праймеры: Omp2a-AB-F 5'-ttcgatcgtggtgtgttg-3' и Omp2a-AB-R 5'-gtcttg-ccscagtcgcat-3'. Оптимизацию проводили в градиенте температуры при концентрации магния от 1,5 до 3,5 мМ с использованием ДНК штаммов *B. abortus* 19 и генетического близкого вида *O. thiophenivorans*.

В результате оптимальный состав реакционной смеси включал праймеры 0,35 мМ каждого, 1 Ед Taq DNA Polymerase (Fermentas); 0,2 мМ каждого дНТФ; 1-х ПЦР буфер (Fermentas, 10 мМ Tris-HCl (pH 8,8 при 25°C), 50 мМ KCl, 0,08% (объем/объем) Nonidet P40), MgCl₂ 2,5 мМ. Оптимальная температура отжига праймеров — 62°C.

Оценка чувствительности протокола была проведена на ряде двукратных разведений ДНК *B. abortus* 19, взятых в концентрациях от 50 до 9,5 нг в реакции. Предел обнаружения составил 76 фг, или около 21 геномных копий ДНК. Проверка специфичности была проведена на образцах ДНК 64 бактериальных патогенов: *B. abortus* (10 штаммов), *B. melitensis* (10 штаммов), *B. suis* (5 штаммов), *B. ovis* (5 штаммов), *B. canis* (1 штамм), *L. monocytogenes* (5 штаммов), *Clostridium spp.* (5 штаммов), *Enterobacteriaceae* (17 штаммов), *Mycobacterium spp.* (6 штаммов). Специфический ПЦР продукт был выявлен только в 30 образцах ДНК *Brucella spp.* в остальных ДНК, включая 1 образец ДНК *B. ovis* ПЦР продукты отсутствовали. В результате анализа нуклеотидной последовательности 16S rRNA гена данный штамм был идентифицирован как *B. bronchi-septica*. Таким образом, разработанный протокол идентификации *Brucella spp.* методом ПЦР является высокоспецифичным тестом для применения в диагностических лабораториях.

МОНИТОРИНГ ЦИТОМЕГАЛОВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ У МАКАК ЯВАНСКИХ ПРИ ПАТОЛОГИИ БЕРЕМЕННОСТИ И РОДОВ

А.А. Агумава, О.А. Шамсутдинова, М.Г. Чикобава
ФГБУ НИИ медицинской приматологии РАН, г. Сочи

В последние годы появляется все больше данных о связи цитомегаловирусной инфекции (ЦМВИ) с осложнениями беременности и родов (аборт, патологические роды, мертворождения). Частота распространения ЦМВИ среди особей репродуктивного возраста и беременных самок неуклонно растет. Установлена возможность трансплацентарной и перинатальной передачи ЦМВИ детенышам от инфицированных матерей во время беременности и родов за счет аспирации цервикального и вагинального содержимого.

Цель работы — определение роли ЦМВИ в патологии беременности и родов у макак яванских. Объектом исследования являлись 12 погибших самок макаки яванской репродуктивного возраста, имевших в анамнезе самопроизвольные выкидыши, интранатальную гибель плода и неонатальную смерть новорожденных. Группу сравнения составили 14 самок, не имевших в анамнезе осложнений беременности и родов. Материалом для исследования служили соскобы, взятые из цервикального отдела и полости матки погибших самок. Определение инфицированности обезьян ЦМВ проводили методом полимеразной цепной реакции (ПЦР). Для подготовки и постановки ПЦР использовали коммерческие наборы «ДНК-сорб» и «АмплиСенс CMV-FL» соответственно, производства ЦНИИ эпидемиологии (Москва).

Результаты проведенного исследования показали, что ЦМВИ была выявлена у 9 (75%) самок с патологией беременности и родов и у 4 (28,6%) самок группы сравнения. Так, ДНК ЦМВ обнаружена у 100% самок с самопроизвольными выкидышами, у 71% самок с интранатальной смертью плода и у 66% самок с неонатальной гибелью новорожденного в анамнезе. Таким образом, приведенные данные свидетельствуют о более высокой частоте обнаружения ЦМВИ ($p \leq 0,001$) у самок, имеющих в анамнезе различные виды патологии беременности и родов, по сравнению с особями, не имевшими осложнений. В результате нашего исследования мы пришли к заключению, что ЦМВИ влияет на репродуктивную функцию, исход беременности и родов у самок макаки яванской. Наши данные подтверждаются основными закономерностями развития ЦМВИ у людей.

ЭТИОЛОГИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА И АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТЬ АКТУАЛЬНЫХ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ГНОЙНО-ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ У ОНКОЛОГИЧЕСКИХ БОЛЬНЫХ

ЭТИОЛОГИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА И АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТЬ АКТУАЛЬНЫХ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ГНОЙНО-ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ У ОНКОЛОГИЧЕСКИХ БОЛЬНЫХ

А.В. Алабушева¹, О.Е. Хохлова^{1,2}, Т.А. Пируева¹,
О.И. Иванова¹, М.В. Данжаев¹

¹ ГБОУ ВПО Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого

² Российско-японский центр микробиологии, эпидемиологии и инфекционных заболеваний, г. Красноярск

Цель: изучить микробный пейзаж гнойно-воспалительных осложнений у онкологических больных и чувствительность к антибиотикам основных возбудителей.

Материалы и методы. В период с июня 2012 г. по ноябрь 2013 г. обследовано 100 пациентов, находившихся на послеоперационном лечении в ОРИТ КККОД им. А.И. Крыжановского. По поводу злокачественных новообразований желудочно-кишечного тракта (рак желудка, пищевода, поджелудочной железы, ободочной и прямой кишки) прооперировано 83 пациента, по поводу рака легких — 17. Исследуемый материал — бронхоальвеолярное содержимое, раневое отделяемое. Выделение и идентификацию возбудителей проводили в соответствии со стандартными методиками. Продукцию бета-лактамаз расширенного спектра (БЛРС) у энтеробактерий определяли методом «двойных дисков» на среде