

Ускоренное выявление ДНК *Gardnerella vaginalis* при помощи прямой ПЦР

Accelerated detection of *Gardnerella vaginalis* DNA using direct PCR

Автор – Ильин Илья Игоревич /

Author - Author – Ilin Ilya Igorevich

Соавтор – Марданлы Сейфаддин Гашимович /

Coauthor - Mardanly Seyfaddin Gashimovich

АО «ЭКОлаб», г. Электрогорск, Россия /

JSC "EKOlaboratory", Elektrogorsk, Russia

Введение

Для выявления ДНК *Gardnerella vaginalis* методом ПЦР, клинические образцы предварительно должны пройти этап экстракции для очистки нуклеиновой кислоты от примесей, являющимися ингибиторами ПЦР. Для упрощения работы научных сотрудников или специалистов клинической лабораторной диагностики был разработан метод прямой ПЦР для выявления ДНК *Gardnerella vaginalis*.

Цель

Разработать и апробировать метод прямой ПЦР (direct polymerase chain reaction) для выявления ДНК *Gardnerella vaginalis* в искомой пробе минуя этап экстракции нуклеиновых кислот.

Материалы и методы

Для ускоренного метода выявления был самостоятельно разработан нужный дизайн олигонуклеотидов с помощью программ AlignX и BLAST online, подобрана программа амплификации и буферная смесь для постановки ПЦР. Амплификация полученных результатов была проведена с помощью термоциклера Bio-Rad CFX 96. Для сравнения результатов были использованы коммерческие наборы РеалБест экстракция 100 (РУ № РЗН 2014/1423) и РеалБест ПЦР - 12 ИППП (РУ № РЗН 2021/14056).



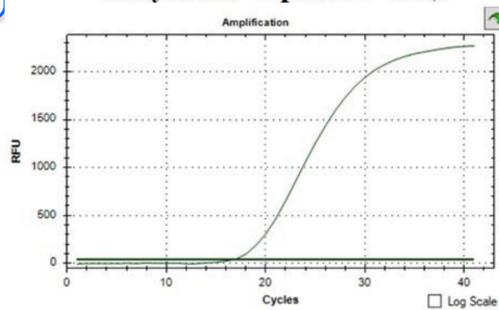
Результаты

Были проанализированы геномы представителей рода *Gardnerella* spp. из базы данных NCBI и подобран специфический набор праймеров для гена Sialidase A.

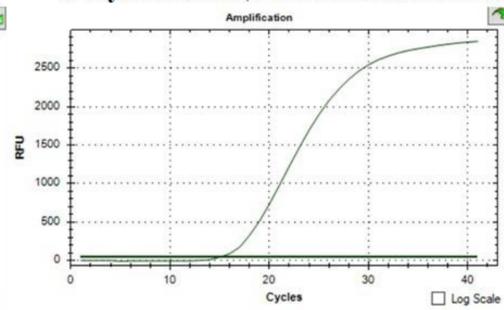
Были проведены тесты специфичности данной ПЦР системы с часто встречающимися ИППП, перекрёстных реакций не обнаружено.

Проведена апробация прямой ПЦР путём сравнения результатов выявления искомой ДНК с экстракцией нуклеиновых кислот и без неё. Экспериментальным путём удалось достичь практически сходных данных детекции Ct и RFU. ДНК *Gardnerella vaginalis* можно выявить при помощи нового метода прямой ПЦР. Это поможет быстрее выявить ДНК данной бактерии, что может быть полезно в условиях большой поточности образцов в клинической лабораторной диагностике.

Результат "прямой" ПЦР



Результат ПЦР после выделения



Выводы

Метод прямой ПЦР для выявления ДНК *Gardnerella vaginalis* был успешно апробирован и возможен для качественного выявления ДНК данного организма.

Библиография

1. Крысанова А.А. *Gardnerella vaginalis*: генотипическое и фенотипическое разнообразие, факторы вирулентности и роль в патогенезе бактериального вагиноза // *Журнал акушерства и женских болезней*. 2019; 68 (1): 59–68.
2. Боровкова Л. В., Челнокова Е.В. Современные методы диагностики и лечения инфекций, передающихся половым путем // *Медицинский альманах*. 2010; 11 (2): 150-55.
3. Ребриков Д.В. ПЦР в реальном времени. М.: *Лаборатория знаний*; 2019.



IX НАЦИОНАЛЬНЫЙ КОНГРЕСС
БАКТЕРИОЛОГОВ

Москва • 17 - 19 сентября 2024 г.