

Осипкина О.В.¹, Воропаев Е.В.¹, Воропаева А.В.²,
Рымко А.Н.³, Акалович С.Т.³, Бонда Н.А.¹

ОЦЕНКА АНАЛИТИЧЕСКИХ ХАРАКТЕРИСТИК РАЗРАБОТАННОГО МЕТОДА КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ДНК TORQUE TENO VIRUS

¹УО «Гомельский государственный медицинский университет», г. Гомель, Беларусь

²ГУ «Республиканский научно-практический центр радиационной медицины и экологии человека», г. Гомель, Беларусь

³ООО «АртБиоТех», г. Минск, Беларусь

Введение. Анезловирусы являются одними из самых распространенных человеческих вирусов, считаются частью человеческого виroma. Определение вирусной нагрузки Torque teno virus (TTV, Alphatorquevirus homin) представляет интерес для использования в качестве биомаркера в трансплантологии и других областях, таких как ревматология, онкология и инфекционные заболевания, что обуславливает актуальность разработки количественных методов определения.

Цель. Оценить аналитические характеристики разработанного метода количественного определения ДНК TTV.

Материалы и методы. Для разработки молекулярно-генетического метода для качественного выявления и количественной оценки ДНК TTV выбрана полимеразная цепная реакция в реальном времени в формате мультиплекс. В качестве биологического материала использованы лейкоциты и плазма крови, назофарингеальные мазки, слюна здоровых добровольцев и пациентов с установленным диагнозом вторичного иммунодефицитного состояния на фоне основного заболевания.

Результаты. Разработаны оригинальные олигонуклеотидные праймеры и молекулярный зонд к консервативному региону генома TTV, а также молекулярные зонды к участку ДНК β-глобинового гена человека и внутреннего контрольного образца (ВКО), выбраны праймеры к участку ДНК β-глобинового гена человека и ВКО, проведена оптимизация состава реакционной смеси и программ амплификации. Структура праймеров и зондов для выявления ДНК TTV и определения вирусной нагрузки: ttv-прямой-5'-cc[+g]aatg[+g][+c]tgagtt-3' ([+N] – LNA-модификация), ttv-обратный-5'-gcccttgactbcggt-3', ttv-зонд-HEX-cggcaccgccct-MGB; праймеры и зонды для выявления участка ДНК β-глобинового гена человека: β-глобин-прямой-5'-tgcacgtggatcctgagaact-3', β-глобин-обратный-5'-aattcttgcacaaagtgtggg-3', β-глобин-зонд-5'-FAM-caggctcctgggcaacgtgctg -BHQ1-3'; праймеры и зонды для выявления ДНК внутреннего контрольного образца: ВКО-прямой-5'-gtcgcggaattggcgc-3', ВКО-обратный-5'-ggccacgtgtttgatcga-3', ВКО-зонд-5'-FAM-atctctgttagggcaagatcgccacaggsa-BHQ1-3'. Синтез праймеров и зондов осуществлен в ООО «АртБиоТех» (РБ). Разработан метод количественного определения ДНК TTV, определены аналитические характеристики разработанного метода (чувствительность, специфичность, диапазон, воспроизводимость). Аналитическая чувствительность метода составила 500 копий/мл. Диапазон количественной оценки набора составляет 1500 копий/мл – 10⁸ копий/мл. Воспроизводимость оценена по результатам, полученным разработанным методом на идентичных образцах в разных лабораториях с использованием различ-

ного оборудования. Аналитическая специфичность определена in silico с помощью программного приложения Nucleotide BLAST (свободный доступ <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>), а также при исследовании клинического материала с последующим подтверждением результата методом секвенирования, полученные нуклеотидные последовательности депонированы в международный генный банк GenBank NCBI.

Заключение. Определены аналитические характеристики разработанного метода количественного определения ДНК TTV, позволяющего проводить выявление и количественное определение ДНК TTV человека в различных образцах биологического материала.

Охремчук Е.В.^{1,2}, Валентович Л.Н.², Тонко О.В.^{3,4},
Гасич Е.А.¹, Коломиец Н.Д.⁴

ГЕНОМНЫЙ АНАЛИЗ ДВУХ КЛИНИЧЕСКИХ ИЗОЛЯТОВ БАКТЕРИЙ *LEGIONELLA* *PNEUMOPHILA*, ВЫДЕЛЕННЫХ НА ТЕРРИТОРИИ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ

¹НИИ гигиены, токсикологии, эпидемиологии,
вирусологии и микробиологии

ГУ «Республиканский центр гигиены, эпидемиологии
и общественного здоровья»,
г. Минск, Республика Беларусь

²Институт микробиологии НАН Беларуси, г. Минск,
Республика Беларусь

³Городская детская инфекционная клиническая
больница, г. Минск, Республика Беларусь

⁴Белорусский государственный медицинский
университет, г. Минск, Республика Беларусь

Бактерии вида *Legionella pneumophila* являются причиной более 90% клинически зарегистрированных случаев легионеллёза. Несмотря на относительно низкий уровень заболеваемости (10–15 случаев на миллион населения), в последние годы наблюдается устойчивая тенденция к её росту во всём мире. Этому способствует урбанизация, старение населения, глобальные изменения климата, а также совершенствование систем мониторинга возбудителей инфекционных заболеваний. Все чаще в эпидемиологических исследованиях случаев легионеллёза используют полногеномное секвенирование, так как данный подход позволяет установить генетическое родство между штаммами, оценить степень вирулентности и устойчивости к антимикробным препаратам, описать другие индивидуальные особенности генетической организации бактерий, что в целом способствует разработке мер для профилактики инфекции.

Целью данной работы являлся сравнительный анализ геномов двух изолятов *L. pneumophila*, выделенных из образцов бронхоальвеолярного лаважа одного пациента.

Установлено, что оба генома представлены одной кольцевой хромосомой с показателем средней нуклеотидной идентичности 99,5 %. ГЦ-содержание геномов составило 38,5 %, размер хромосом отличался незначительно: 3 420 918 п.н. в случае штамма 11052018-5 и 3 420 896 для штамма 18052018. Изучаемые легионеллы принадлежат к различным сиквенс-типам: 2441 (*L. pneumophila* 11052018-5) и 963 (*L. pneumophila* 18052018). В отличие от штамма 11052018-5, геном *L. pneumophila* 18052018 содержит одну неполную профаговую область размером 30,7