

Шуманская С.Ю., Григорьева Е.Е., Дронина А.М., Фомина Е.Г.

ОСОБЕННОСТИ ПЦР-ДИАГНОСТИКИ ЛЯБЛИОЗА

Научный руководитель: канд. мед. наук, доц. Дронина А.М.

Лаборатория иммунологии и клеточной биотехнологии

РНПЦ эпидемиологии и микробиологии, г. Минск

Актуальность. Несмотря на достижения современной медицины в диагностике, лечении и профилактике паразитарных инвазий наносимый ими социальный и экономический ущерб остается значительным. Согласно данным ВОЗ, ежегодно лямблиоз затрагивает более 200 млн. человек. В настоящее время существует множество методов диагностики возбудителя лямблиоза – *Giardia lamblia*, но ни один из них не является настоящим «золотым стандартом». «Традиционно» лабораторная диагностика осуществляется путем микроскопического исследования образцов фекалий. Преимуществом этого метода является низкая стоимость, недостатками: невысокая чувствительность и специфичность, а также субъективность в оценке результатов. Прямой флуоресцентный анализ на антитела и определение антигена в стуле с помощью иммуноферментного анализа (ELISA) имеет большую чувствительность и специфичность, но не исключает вероятности ложно положительных/отрицательных результатов. В последние годы методы обнаружения нуклеиновых кислот на основе ПЦР показали более высокую чувствительность и специфичность по сравнению с микроскопией и тестами на обнаружение антигена в ИФА.

Цель: изучить особенности выявления нуклеиновых кислот *Giardia lamblia* с использованием полимеразной цепной реакции в режиме реального времени.

Материалы и методы. Выделение ДНК лямблий из проб осуществлялось с использованием метода колоночного выделения с использованием коммерческого набора AccuPrep Stool DNA Extraction Kit (BIONEER, Республика Корея). ПЦР с гибридизационно-флуоресцентной детекцией в режиме «реального времени» проводили с помощью отечественного набора реагентов для генодиагностики *Giardia lamblia*, *Cryptosporidium parvum*, *Entamoeba histolytica* «Прото-ПЦР/РВ» и его коммерческого аналога «ФБио – ДНК *Giardia lamblia*» (ООО «ФБио», Российская Федерация).

Результаты и их обсуждение. В ходе работы исследовались фекальные образцы от пациентов с симптомами, не исключающими лямблиоз, в сравнительном аспекте с использованием двух тест-систем отечественного и зарубежного производства. Результаты совпали в 100% случаев. У 10,5% исследованных образцов удалось детектировать ДНК *Giardia lamblia* (6 проб стула). Затруднения в исследовании фекальных образцов в основном были связаны со сложностью разрушения цист лямблий и эффектом ингибирования ПЦР-реакции, связанным с присутствием в фекальных образцах большого количества ингибиторов ПЦР (липиды, билирубин, соли желчных кислот, бактерии микробиоты и др.). Установлено, что в составе тест-системы обязательно должен присутствовать внутренний контрольный образец, который даёт четкие представления об ингибировании реакции и является критерием для использования дополнительного этапа разведения образцов и/или повторной постановки реакции. В ряде случаев имела необходимость повторного выделения генетического материала.

Выводы: на этапе выделения правильная подготовка проб позволяет значительно увеличить чувствительность и специфичность ПЦР-реакции. Результаты лабораторных исследований указывают на высокую эффективность и специфичность отечественного набора реагентов для генодиагностики *Giardia lamblia*, *Cryptosporidium parvum*, *Entamoeba histolytica* «Прото-ПЦР/РВ». Внедрение ПЦР-диагностики позволит повысить эффективность выявления возбудителей основных кишечных паразитарных инвазий, дать характеристику генетическим вариантам *Giardia lamblia*, циркулирующим на территории Республики Беларусь, и определить их фенотипические особенности.