

УДК 616:619

## ДНК-ДИАГНОСТИКА ИНФЕКЦИЙ

*Паладьева Д.Е.<sup>1</sup>, студентка 4 курса ФВМиБ;*

*Масолиева Г.К.<sup>1</sup>, Корнеева Л.В.<sup>1</sup>, студентки 1 курса;*

*Ким О.О.<sup>2</sup>, студентка 2 курса*

*Научные руководители: Васильева Ю.Б.<sup>1</sup>, доцент, кандидат ветеринарных наук;*

*Масиленко А.В.<sup>1</sup>, старший преподаватель, кандидат биологических наук*

*ФГБОУ ВО Ульяновская ГСХА<sup>1</sup>*

*Узбекский государственный Университет мировых языков<sup>2</sup>*

**Ключевые слова:** молекулярно-генетическая диагностика, ПЦР, бордетеллэз

В статье рассматриваются вопросы лабораторной диагностики бордетеллэза с использованием методов генодиагностики.

Методы генодиагностики используется во многих областях для проведения анализов и научных экспериментов. ПЦР дает возможность существенно ускорить и облегчить диагностику инфекционных заболеваний.

ДНК-диагностика позволяет обнаружить инфекционный агент сразу после заражения в инкубационный период болезни, задолго до того, как проявятся симптомы. Уникальность диагностического анализа методом ПЦР нередко оказывается эффективнее других методов и в поздние сроки заболевания, и на фоне лечения антибиотиками. В 2010 году была апробирована мультиплексная ПЦР «в одной пробирке» [1, 2].

Целью наших исследований явилась разработка мультиплексной ПЦР-диагностики бордетеллэза.

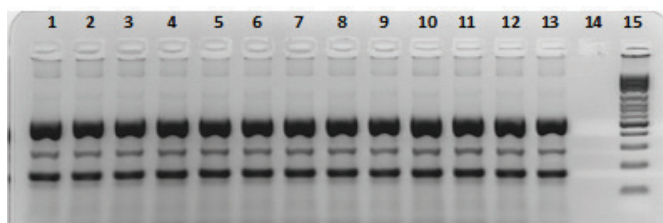
Работа была проведена на базе НИИЦМиБ. Параметры постановки ПЦР приведены в таблице 1.

В своей работе мы использовали следующие методы исследований: метод выделения нуклеиновых кислот из культур сорбентным способом, проведение мультиплексной полимеразной цепной реакции с оригинальными системами праймеров, детекция с помощью горизонтального электрофореза [3-5]. Для многокомпонентного формата ПЦР было решено использовать 2 системы праймеров к участкам генов *bfrA*

Таблица 1 – Протокол ПЦР

№ цикла	Шаг	Температура	Длительность	Количество повторов
1	1	95°C	5 мин	1
2	1	95°C	10 сек	40
	2	62°C	10 сек	
	3	72°C	20 сек	
3	1	72°C	2 мин	1

и *сsox* и 3 системы праймеров к участкам генов *bfrA*, *bfrZ* и *сsox*. Количество и соотношение праймеров были подобраны экспериментальным путем: по 5 pmol праймеров системы для участков генов *bfrA* и *bfrZ* и 15 pmol для участка гена *сsox*. Время выполнения программы на термодиске, составило 70 минут (рис.1).



**Рисунок 1 - Электрофореграмма мультиплексной ПЦР к участкам генов *BfrA*, *BfrZ* и *Cytochrom-C-oxidase*. 1-13 – штаммы *B. bronchiseptica*, выделенные из клинического материала; 14 – отрицательный контроль; 15– маркер молекулярного веса**

Мы установили, что мультиплексный формат ПЦР позволяет в короткие сроки в одной пробе определить наличие участка ДНК, специфичного для трех представителей рода *Bordetella*.

Так как актуальным является вопрос о сокращении себестоимости и времени проведения ПЦР в «поточном» режиме мы рекомендуем для этих целей использовать мультиплексный формат проведения ПЦР.

#### Библиографический список

1. Васильев, Д.А. Применение полимеразной цепной реакции при идентификации возбудителя бордетеллеза животных / Д.А. Васи-

- льев, А.В. Мاستиленко, Д.Г. Сверкалова, Ю.Б. Васильева // Естественные и технические науки. – 2010. - № 5. – С. 230-232.
2. Васильева Ю.Б. Детекция бактерий *Bordetella bronchiseptica* в мультитиплексной полимеразно-цепной реакции / Ю.Б. Васильева, А.В. Мاستиленко, А.Г. Семанин, А.С. Скорик, Е.И. Суркова / Аграрная наука - сельскому хозяйству. - 2014. - С. 253-257.
  3. Васильева Ю.Б. Алгоритм использования тест-системы индикации и идентификации бактерий *B. Bronchiseptica* / Ю.Б. Васильева, А.В. Мاستиленко, Д.А. Васильев, Р.Р. Бадаев, С.В. Мерчина, И.Г. Швиденко, Е.И. Суркова / Современные проблемы науки и образования. - 2014. - № 5. - С. 606.
  4. Васильева Ю.Б. Интерактивные формы обучения студентов / Ю.Б. Васильева, И.И. Богданов, С.Н. Золотухин, О.Н. Марьина / Инновационные технологии в высшем профессиональном образовании. Материалы научно-методической конференции профессорско-преподавательского состава академии . - 2013. - С. 39-42.
  5. Васильева Ю.Б. Наборы для детекции бактерий вида *B. bronchiseptica* / Ю.Б. Васильева, А.В. Мاستиленко, Д.А. Васильев, А.Г. Семанин, Е.И. Суркова, А.С. Скорик, А.Н. Пирюшова, Н.Р. Уралов / Актуальные вопросы контроля инфекционных болезней животных. Материалы Международной научно-практической конференции, посвященной 55-летию ВНИИВВиМ. - 2014. - С. 48-53.
  6. Васильева Ю.Б. Эпизоотология и инфекционные болезни животных / Ю.Б. Васильева, И.И. Богданов / Для студентов по специальности «Ветеринария» / Ульяновск, 2015.
  7. Васильева Ю.Б. Биопрепараты для детекции бактерий *Bordetella bronchiseptica* / Ю.Б. Васильева, Д.А. Васильев, А.В. Мاستиленко, Д.Г. Сверкалова / Инфекция и иммунитет. - 2014. - № 5. - С.70-71.
  8. Глик Б., Пастернак Дж. Молекулярная биотехнология. Принципы и применение. Пер. с англ. — М.: Мир, 2002. — 589 с.
  9. Ломакин А.А. Чувствительность к антимикробным средствам бактерий вида *Bordetella bronchiseptica* / А.А. Ломакин, А.В. Мاستиленко, Ю.Б. Васильева / Фундаментальные и прикладные исследования по приоритетным направлениям биоэкологии и биотехнологии. материалы I международной научно-практической конференции. - 2014. - С.144-147.
  10. Мاستиленко А.В. Разработка методики серологической идентификации *Bordetella bronchiseptica* с помощью иммуноэлектрофореза / А.В. Мاستиленко, Д.Г. Сверкалова, Е.Г. Семанин, Ю.Б. Васильева / Молодежь и наука XXI века. Материалы III-й Международной научно-практической конференции молодых ученых. - 2010. - С. 47-49.

11. Мاستиленко А.В. Разработка протокола проведения ПЦР для детекции бактерий вида *Bordetella bronchiseptica* / А.В. Мاستиленко, Ю.Б. Васильева, Н.А. Феоктистова / Фундаментальные и прикладные исследования по приоритетным направлениям биоэкологии и биотехнологии. материалы I международной научно-практической конференции. - 2014. - С. 113-116.
12. Мастиленко А.В. Разработка системы дифференциации *B. bronchiseptica* и *B. pertussis* на основе мультиплексной ПЦР в режиме «Реального времени» / А.В. Мастиленко, Д.А. Васильев, О.Ю. Борисова, Ю.Б. Васильева // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. – 2014. – №1. – С. 50-54.
13. Мастиленко А.В. Подбор праймеров для выявления генов бактерий вида *Bordetella bronchiseptica* / А.В. Мастиленко, Ю.Б. Васильева, Н.А. Феоктистова / Фундаментальные и прикладные исследования по приоритетным направлениям биоэкологии и биотехнологии. материалы I международной научно-практической конференции. - 2014. - С.109-112.
14. Мастиленко, А.В. Определение эффективности разработанных зондов в реакции ОТ–ПЦР для повышения специфичности выявления *Bordetella bronchiseptica* / А.В. Мастиленко, Д.А. Васильев, Ю.Б. Васильева, Д.Г. Сверкалова // Инфекция и иммунитет. - 2013. - Т. III. - № 2. - С. 152.
15. Мухин Е.Б. Разработка препарата на основе бактериофагов / Е.Б. Мухин, Ю.Б. Васильева, А.Г. Семанин, А.В. Загуменнов, Е.И. Суркова / Знания молодых для развития ветеринарной медицины и АПК страны. - 2015. - С. 147-148.
16. Найденова В.А. Инфекции: неизбежность или безответственность? / В.А. Найденова, Ю.Б. Васильева / Студенческий научный форум - 2015. - VII Международная студенческая электронная научная конференция, электронное издание. 2015.
17. Нафеев А.А. Зоонозные инфекции, с природной очаговостью, с позиции эпидемиологического и эпизоотологического диагнозов / А.А. Нафеев, Д.А. Васильев, С.Н. Золотухин, Ю.Б. Васильева Ю.Б. / Актуальные вопросы ветеринарной науки. Материалы Международной научно-практической конференции. - 2015. - С. 50-53.
18. Никкульшина Ю.Б. Выделение бактерий рода *Bordetella brovchiseptica* от домашних животных / Ю.Б. Никкульшина, Д.Г. Сверкалова, Е.Н. Никулина, Д.Н. Хлынов / Роль молодых ученых в реализации национального проекта «развитие АПК». Материалы Международной научно-практической конференции. - 2007. - С. 281-284.

19. Пирюшова А.Н. Анализ эпизоотической ситуации по карантинным инфекциям / А.Н. Пирюшова, Ю.Б. Васильева / Студенческий научный форум -2014. - VI Международная студенческая электронная научная конференция: Электронное издание. 2014.
20. Пирюшова А.Н. Особо опасные инфекции из-за рубежа / А.Н. Пирюшова, Ю.А. Журавкова, Ю.Б. Васильева / Студенческий научный форум - 2015. VII Международная студенческая электронная научная конференция, электронное издание. 2015.
21. Пульчеровская Л.П. Организация самостоятельной работы студентов при изучении клинических дисциплин кафедры МВЭ и ВСЭ / Л.П. Пульчеровская, Н.И. Молофеева, Ю.Б. Васильева, Д.А. Васильев / Инновационные технологии в высшем профессиональном образовании. Материалы научно-методической конференции профессорско-преподавательского состава академии. - 2015. - С. 144-146.
22. Семанин А.Г. Анализ распространения бордетеллеза домашних животных / А.Г. Семанин, А.С. Скорик, Е.И. Суркова, Ю.Б. Васильева, О.Н. Марьина / Студенческий научный форум -2014. VI Международная студенческая электронная научная конференция: Электронное издание. 2014.
23. Семанин А.Г. Комплексный биопрепарат на основе фагов / А.Г. Семанин, Е.И. Суркова, А.С. Скорик, Ю.Б. Васильева / Фундаментальные и прикладные исследования по приоритетным направлениям биоэкологии и биотехнологии. материалы I международной научно-практической конференции. - 2014. - С.79-82.
24. Семанин А.Г. Разработка селективной добавки для выделения возбудителя респираторной инфекции / А.Г. Семанин, Ю.Б. Васильева, А.В. Загуменнов, Е.Б. Мухин / Знания молодых для развития ветеринарной медицины и АПК страны. - 2015. - С.196-197.

## DNA-DIAGNOSIS OF INFECTIONS

*Paladyeva D.E., Masalieva G.K., Korneeva L.V., Kim O.O.*

**Key words:** molecular-genetic diagnosis, PCR, Bordetella

The article deals with the issues of laboratory diagnosis of Bordetella using methods of gene diagnostic.