

«Сейфуллин окулары-14: Жастар, ғылым, инновациялар: цифрландыру – жаңа даму кезеңі» атты Республикалық ғылыми-теориялық = Материалы Республиканской научно-теоретической конференции «Сейфуллинские чтения-14: Молодежь, наука, инновации: цифровизация – новый этап развития». - 2018. – Т.1, Ч.2. - С. 324-325.

МЕТОДЫ ВЫДЕЛЕНИЯ ДНК ОПИСТОРХИД ИЗ БИОЛОГИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА

*Айтмагамбетова М.С. магистрант;
Акимжанова А.М., магистрант;
Смагулова А.М, с.н.с. НИИП СХБ*

Описторхоз – один из наиболее распространенных природно-очаговых гельминтозов человека, характеризующийся поражением гепатобилиарной системы, аллергическими проявлениями, спленомегалией, лейкоцитозом и эозинофилией. Возможно многолетнее бессимптомное течение [1].

В Казахстане описторхоз встречается в Акмолинской, Восточно-Казахстанской, Костанайской, Павлодарской, Карагандинской, Северо-Казахстанской областях [2]. Методы диагностики копроовоскопии и ИФА не позволяют проводить дифференциацию возбудителя в силу схожести строения яиц паразитов и однородности антигенных белков.

Молекулярно-генетическая диагностика описторхоза является в настоящее время одной из наиболее приоритетных и оправданно востребованной, открывает большие перспективы. К биомолекулярным методам диагностики описторхозов относятся полимеразно-цепная реакция (ПЦР) с различными её модификациями, обладающие наибольшей диагностической точностью. Широкое внедрение её в клиническую практику значительно улучшит диагностику и позволит предупреждать осложнения и грозные исходы хронической описторхозной инвазии. Для ПЦР-диагностики описторхоза (клонорхоза) разные составные генетического материала применяются для тестирования в качестве генетического маркера: транскрибируемые спейсеры ITS1, ITS2, микросателлиты генома, ретротранспозоны, что в значительной мере влияет на чувствительность методики [3].

В силу высокой чувствительности ПЦР – диагностика описторхозов возможна на ранних стадиях болезни, когда яйца в кале ещё не определяются. Кроме того, метод ПЦР рекомендуется для контроля реинвазии и оценки эффективности терапии [4], однако из-за своей высокой чувствительности и способности реагировать на любой генетический материал (фрагменты гельминтов и яиц) не рекомендуется проводить исследование в ранние сроки после дегельминтизации [5].

Цель данной работы – подбор оптимального метода и отработка параметров выделения ДНК описторхид из биологического материала. В качестве материала для исследования использовались образцы кала и дуоденальной жидкости от больных, находившихся на лечении в Городской

инфекционной больнице г. Астаны, с подтвержденным диагнозом «описторхоз».

Пробоподготовку осуществляли по методу, предложенному *Duengai K.* с соавт. Выделение ДНК проводили тремя методами: с предварительной обработкой щелочью [3], с предварительной гомогенизацией и с помощью набора для выделения ДНК из культур клеток («Биосилика», РФ).

Для амплификации готовили реакционную смесь содержащую 25 mM MgCl₂, 10 mM dNTP и 0,2 Ед Taq-полимеразы. Температура отжига праймеров составляла 65°C. ПЦР продукты анализировали в 1,5% агарозном геле.

Полученные нами данные свидетельствуют, что оптимальным методом выделения ДНК из биологического материала с наличием яиц возбудителя описторхоза является метод, при котором используется дополнительный этап – механическая гомогенизация биологического материала с последующим использованием 5M NaCl и СТАВ. Этот метод позволяет получать ДНК с оптимальной концентрацией для проведения ПЦР анализа с парой праймеров *ITS1*.

Таким образом, в результате проведенных исследований, нами был отработан наиболее оптимальный метод выделения ДНК из биологического материала, не содержащих ингибирующих веществ, что позволило использовать его для постановки ПЦР анализа, с последующей идентификацией возбудителя описторхоза методом секвенирования.

Список литературы

1. Сергиев В.П. Атлас клинической и паразитологической и тропической медицины // Москва: Товарищество научных издательств КМК, 2010. – 280 с.
2. Жумагазин Ж.Д., Жамбурчинова А.Н., Айтмагамбетова С.Б. Описторхоз и онкопатология // *Consilium*, №4 (46), – 2013. – 18-20 с.
3. Duengai K., Boonmars T., Sithithaworn J., Sithithaworn P. Diagnosis of early infection and post chemotherapeutic treatment by copro-DNA detection in experimental opisthorchiasis // *Parasitol. Res.* – 2013. – Vol. 112(1). – P. 271–278.
4. Chen J.H., Wang H., Chen J.X., Bergquist R., Tanner M., Utzinger J., Zhou X.N. Frontiers of parasitology research in the People's Republic of China: infection, diagnosis, protection and surveillance // *Parasit. Vectors.* – 2012. – Vol. 5. P. 221.
5. Duengai K., Sithithaworn P., Rudrappa U.K., Iddya K., Laha T., Stensvold C.R., Strandgaard H., Johansen M.V. Improvement of PCR for Detection of *Opisthorchis viverrini* DNA in Human Stool Samples // *Journal of clinical microbiology.* – 2008. – Vol. 46(1). – P. 366–368.

Научный руководитель: Киян В.С.