

(ознакомительный фрагмент)

**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ
ГОСУДАРСТВЕННОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ОБРАЗОВАНИЯ
«БЕЛОРУССКАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ
ПОСЛЕДИПЛОМНОГО ОБРАЗОВАНИЯ»**

УДК 616.98:579.88]:616.6+618.1]:618.3-074:577.213

БАДЫГИНА
Наталья Александровна

**ДИАГНОСТИКА ИНФЕКЦИЙ
УРОГЕНИТАЛЬНОГО ТРАКТА У БЕРЕМЕННЫХ ПУТЕМ
КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ДНК МЕТОДОМ
ПОЛИМЕРАЗНОЙ ЦЕПНОЙ РЕАКЦИИ**

Автореферат диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук
по специальности 14.00.46 – клиническая лабораторная диагностика

Минск 2008

Работа выполнена в государственном учреждении образования «Белорусская медицинская академия последипломного образования»

Научный руководитель – **Хулуп Геннадий Яковлевич**, доктор медицинских наук, профессор, ректор государственного учреждения образования «Белорусская медицинская академия последипломного образования»

Официальные оппоненты: **Чиркин Александр Александрович**, доктор биологических наук, профессор, заведующий кафедрой биохимии учреждения образования «Витебский государственный университет им. П.М. Машерова»

Смолякова Ранса Михайловна, доктор биологических наук, заведующая отделом методов ядерной медицины и молекулярного анализа государственного учреждения «Республиканский научно-практический центр онкологии и медицинской радиологии им. Н.Н.Александрова»

Оппонирующая организация — Учреждение образования «Гомельский государственный медицинский университет»

Защита состоится «30» июня 2008 г. в 14.00 часов на заседании совета по защите диссертаций Д 03.15.02 при государственном учреждении образования «Белорусская медицинская академия последипломного образования» по адресу: 220013, г. Минск, ул. П. Бровки 3 к. 3, e-mail ndkolomiets@mail.ru, тел. (8-017) 265-35-21.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке государственного учреждения образования «Белорусская медицинская академия последипломного образования»

Автореферат разослан 27 » июня 2008г.

Ученый секретарь совета по защите диссертаций



Коломиец Н.Д.

Актуальность работы обусловлена отсутствием в клинико-лабораторной практике методики стандартизированной количественной ПЦР для определения мико-уреаплазм в соскобе эпителиальных клеток из урогенитального тракта, не определены диагностически значимые концентрации ДНК этих возбудителей. Недостаточно изучена роль мико-уреаплазм в развитии патологических процессов урогенитального тракта у беременных. Также представляет интерес объективная оценка диагностической и экономической эффективности применения различных методических вариантов детекции амплифицированной ДНК при ПЦР-анализе.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Связь работы с крупными научными программами и темами

Диссертация выполнялась на базе группы ПЦР-диагностики Центральной научно-исследовательской лаборатории государственного учреждения образования «Белорусская медицинская академия последипломного образования» в рамках следующих НИР: «Изучение видовой специфичности и устойчивости к антибиотикам инфекций родовых путей с помощью ПЦР-диагностики для разработки рекомендаций по профилактике осложнений беременности», 2003-2005гг. (в рамках государственной программы фундаментальных исследований «Регуляция и патогенез», № госрегистрации 20033381) и «Изучение молекулярно-биологических особенностей микоплазм, определяющих их патогенные свойства, и оптимизация этиотропной терапии хламидийно-микоплазменной инфекции у различных категорий больных», 2006-2008гг. (в рамках Государственной комплексной программы «Современные технологии в медицине», № госрегистрации 20063255).

Цель и задачи исследования

Цель исследования: повысить эффективность диагностики инфекций урогенитального тракта на основе использования дифференциального подхода к выбору метода детекции амплифицированной ДНК и усовершенствования методики ПЦР-РВ для количественного определения ДНК *Ureaplasma urealyticum* (*Ur.ur.*) и *Mycoplasma hominis* (*M.h.*) в соскобе эпителиальных клеток из урогенитального тракта беременных.

Для достижения указанной цели были поставлены задачи:

1. Установить частоту встречаемости маркеров хламидийно-микоплазменно-трихомонадной инфекции урогенитального тракта у беременных с осложнениями периода гестации и сопутствующими заболеваниями мочеполовой системы, а также определить их взаимосвязь со степенью выраженности клинических проявлений.

2. Провести сравнительную оценку диагностической и экономической эффективности выявления ДНК *Ur.ur.* и *M.h.* с детекцией амплифицированной

ДНК методами гель-электрофореза, гибридизации с нуклеотидными зондами и анализом кривых плавления при ПЦР-анализе.

3. Усовершенствовать методику ПЦР-РВ для количественного определения ДНК *Ur.ur.* и *M.h.* в растворе нуклеиновых кислот и содержания мико-уреаплазм в расчете на 1 клетку человека в исследуемом биологическом материале.

4. Оценить аналитико-диагностическую пригодность и экономическую эффективность усовершенствованной методики ПЦР-РВ для определения ДНК *Ur.ur.* и *M.h.* в материале из цервикального канала и уретры беременных.

5. Определить диагностически значимую концентрацию ДНК *Ur.ur.* и *M.h.* в соскобе эпителиальных клеток из урогенитального тракта беременных с использованием усовершенствованной методики ПЦР-РВ.

Объект исследования: соскобы эпителиальных клеток слизистой оболочки уретры и шейки матки 131 беременной с осложнениями периода гестации и сопутствующими заболеваниями мочеполовой системы.

Предмет исследования: диагностическая и экономическая эффективность качественной ПЦР с детекцией амплифицированной ДНК методами гель-электрофореза, гибридизации с нуклеотидными зондами и анализом кривых плавления; методика ПЦР-РВ для определения количественного уровня ДНК *Ur.ur.* и *M.h.* в соскобе эпителиальных клеток из урогенитального тракта беременных, диагностически значимая концентрация ДНК этих возбудителей.

Положения, выносимые на защиту

1. Хламидийно-микоплазменно-трихомонадная инфекция урогенитального тракта является широко распространенной среди беременных с осложнениями периода гестации и сопутствующими заболеваниями мочеполовой системы. Степень выраженности клинических проявлений воспалительных процессов гениталий зависит от присутствия данных возбудителей в виде моно- или микст-инфекции.

2. В качестве эффективного диагностического теста для выявления ДНК *Ur.ur.* и *M.h.* в материале из цервикального канала и уретры при проведении качественной ПЦР целесообразно использовать для детекции амплифицированной ДНК метод гель-электрофореза. ПЦР с гибридизационной детекцией следует применять для выявления ДНК *Ur.ur.* и *M.h.* у беременных с выраженными клиническими проявлениями инфекций гениталий, а для экономии трудовых и материальных затрат использование данного методического подхода обосновано в большой выборке (не менее 90 пациентов). Для одновременной качественной и количественной диагностики мико-уреаплазменной инфекции предпочтительно применять ПЦР-РВ с анализом кривых плавления.

3. Усовершенствованная методика ПЦР-РВ с использованием разработанных калибраторов ДНК имеет высокие показатели аналитической и

диагностической значимости, позволяет определять количественный уровень копий ДНК гена *ureB Ur.ur.* и гена *16SPHK M.h.* в растворе нуклеиновых кислот, содержание мико-уреаплазм, приходящихся на 1 клетку человека в исследуемом биологическом материале, а также в сравнении с традиционной бактериологической диагностикой сократить время проведения исследования и расходы на реактивы.

4. Диагностически значимая концентрация ДНК *Ur.ur.* и *M.h.* в соскобе эпителиальных клеток из урогенитального тракта беременных с осложнениями периода гестации и сопутствующими заболеваниями мочеполовой системы, установленная при использовании усовершенствованной методики ПЦР-РВ составила: $\geq 10^5$ копий ДНК гена *ureB Ur.ur.* и $\geq 10^5$ копий ДНК гена *16SPHK M.h.* в 1 мл раствора нуклеиновых кислот; в расчете на 1 клетку человека в исследуемом биологическом материале - $>0,3$ клеток уреаплазм и $>0,2$ клеток микоплазм.

Личный вклад соискателя

Постановка проблемы, формулировка целей и задач исследования осуществлены совместно с научным руководителем. В публикациях /3, 10, 13, 14, 15, 16, 19/ диссертанту принадлежит интерпретация полученных им лично данных ПЦР-диагностики урогенитальных инфекций у беременных, а также оценка степени выраженности клинических проявлений инфекции в зависимости от выявленных возбудителей. В статьях /1, 5, 8, 12, 17, 18, 22/, написанных без соавторов и в соавторстве, дифференциальный подход к выбору наиболее адекватного способа детекции амплифицированной ДНК при проведении качественной ПЦР предложен диссертантом. Публикации /2, 4, 7, 9, 11, 20, 21/ основаны на совместных с к.м.н. Костюк С.А. исследованиях по усовершенствованию методики ПЦР-РВ для количественного определения ДНК *Ur. ur.* и *M. h.* в соскобе эпителиальных клеток из урогенитального тракта, диссертантом проведен анализ аналитико-диагностической и экономической ценности предложенной методики, а также с использованием усовершенствованной методики ПЦР-РВ определена диагностически значимая концентрация ДНК *Ur. ur.* и *M. h.* в материале из урогенитального тракта беременных /6/.

Апробация результатов диссертации

Результаты диссертационной работы доложены и обсуждены на международной научной конференции, посвященной 80-летию НИИЭМ «Проблемы инфекционной патологии XXI века» (г. Минск, 2004 г.); научной сессии Белорусского государственного медицинского университета (г.Минск, 2004г.); Республиканской научно-практической конференции «Внутриутробные инфекции: прогнозирование, диагностика, лечение и профилактика» (г. Минск, 2004г.); заседаниях Научно-технического совета БелМАИО (2003, 2004, 2005,

2006 г.); международной конференции молодых ученых, посвященной Всемирному дню науки во имя мира и развития «Молодежь в науке – 2005» (г. Минск, 2005г.), где награждена дипломом за лучший устный доклад; первой международной межвузовской конференции студентов и молодых ученых славянских государств «Медицинская наука, молодежь и современность» (г. Смоленск, 2007г.)

Опубликованность результатов диссертации

По теме диссертации опубликованы 22 печатные работы, из них в научных журналах – 7 статей (объем 3,48 авторских листа); публикаций в сборниках научных трудов – 5; в сборниках материалов конференций – 10. Инструкция по применению – 1. Получено 1 решение о выдаче патента на изобретение, 1 уведомление о положительном результате предварительной экспертизы на выдачу патента на изобретение.

Структура и объем диссертации

Диссертация содержит введение, общую характеристику работы, 4 главы, заключение, библиографический список, состоящий из 272 источников и приложения. Работа изложена на 129 страницах, содержит 29 иллюстраций на 14 страницах и 17 таблиц на 7 страницах, имеет 8 приложений (акты внедрения результатов диссертации, решение о выдаче патента на изобретение, уведомление о положительном результате предварительной экспертизы на выдачу патента на изобретение – всего 8 страниц).

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Методом качественной и количественной ПЦР проводилась диагностика возбудителей инфекций урогенитального тракта у 131 беременной с осложнениями периода гестации и сопутствующими заболеваниями мочеполовой системы (кольпит, угроза прерывания, эрозия шейки матки, ОАГА, патология мочевыводящих путей) на сроке от 6 до 42 недель. Биологическим материалом служили соскобы эпителиальных клеток из уретры и цервикального канала. ДНК выделялась сорбционным методом («ДНК-сорб А», НИИЭМЗ РФ).

Методом качественной ПЦР с электрофоретической детекцией выявляли ДНК гена криптической плазмиды *Chlamydia trachomatis* (*Ch. tr.*), *ureB Ur. ur.*, *16sPНК M. h.* и участка гена *Trichomonas vaginalis* (*Tr. vag.*) («Амплиценс», НИИЭМЗ РФ), применяя амплификатор «Терцик МС2» (ДНК-технология, РФ). Электрофорез проводили в 1,5 % агарозном геле, содержащем 1% бромистый этидий в течение 30 минут.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи в научных журналах

1. Полимеразная цепная реакция – современный метод клинической лабораторной диагностики / С.А. Костюк, Г.Я. Хулуп, Н.А. Бадыгина, Э.Н. Заборонок, Д.И. Страздин // Медицинские новости. – 2004. – №2. – С. 24–30.

2. Определение концентрации ДНК мико- и уреаплазм у беременных при инфекциях родовых путей методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени (Real-time PCR) / Г.Я. Хулуп, С.А. Костюк, Н.А. Бадыгина, М.А. Исмаил // Иммунопатология, аллергология, инфектология. – 2004. – №3. – С. 95–99.

3. Бадыгина, Н.А. Изучение видовой специфичности инфекций у беременных женщин с клиническими проявлениями инфекции родовых путей в разные сроки гестации / Н.А. Бадыгина, С.А. Костюк, М.Н. Исмаил // Медицинская панорама. – 2004. – №8 (43). – С. 36–38.

4. Бадыгина, Н.А. Аналитико-диагностическая значимость метода ПЦР в реальном времени (Real-time PCR) для количественного определения ДНК *Ureaplasma urealyticum* и *Mycoplasma hominis* / Н.А. Бадыгина, С.А. Костюк // Вес. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. біялаг. навук – 2005. – №5. ч.1. – С. 17–19.

5. Бадыгина, Н.А. Сравнительный анализ эффективности ПЦР диагностики при использовании различных способов детекции амплифицированной ДНК / Н.А. Бадыгина, С.А. Костюк // Вес. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. біялаг. навук – 2006. – № 4. – С. 85–89.

6. Бадыгина, Н.А. Определение относительной концентрации микоуреаплазм методом полимеразной цепной реакции в реальном времени / Н.А. Бадыгина, С.А. Костюк // Медицинские новости. – 2006. – № 10 (136). – С. 106–110.

7. Хулуп, Г.Я. Аналитическая пригодность метода полимеразной цепной реакции в режиме реального времени для определения концентрации молекул ДНК *Ureaplasma urealyticum* и *Mycoplasma hominis* / Г.Я. Хулуп, Н.А. Бадыгина, С.А. Костюк, А.Л. Сычев // Вес. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. біялаг. навук – 2006. – №3 – С. 94–98.

Статьи в научных сборниках

8. Хулуп, Г.Я. Методические особенности анализа наличия ДНК *Chlamydia trachomatis*, *Ureaplasma urealyticum* и *Mycoplasma hominis* в биологическом материале гибридизационным методом детекции продуктов амплификации / Г.Я. Хулуп, С.А. Костюк, Н.А. Бадыгина // Генодиагностика инфекционных болезней: сборник трудов 5-й Всероссийской науч-практ. конф., Москва, 19–21 октяб. 2004г. / РАМН; под ред. В.И. Покровского. – Москва, 2004. – Т.1. – С.131–134.

9. Хулуп, Г.Я. Количественная оценка концентрации ДНК *Ureaplasma urealyticum* и *Mycoplasma hominis* методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени (Real-time PCR) у беременных при инфекциях родовых путей / Г.Я. Хулуп, С.А. Костюк, Н.А. Бадыгина // Генодиагностика инфекционных болезней: сборник трудов 5-й Всероссийской науч-практ. конф., Москва, 19–21 октяб. 2004г. / РАМН; под ред. В.И. Покровского. – Москва, 2004. – Т.1. – С.375-381.

10. Бадыгина, Н.А. Оценка выраженности клинических проявлений воспалительных процессов урогенитального тракта у беременных с осложнениями периода гестации при наличии моно- и/или микст-форм инфекции / Н.А. Бадыгина, С.А. Костюк // Труды молодых ученых 2006: сб. науч. работ, Минск, 2006 г. / БГМУ; под общ. ред. С.Л. Кабака. – Минск, – С. 13 – 16.

11. Бадыгина, Н.А. Определение количественной мико-уреаплазменной нагрузки: методические особенности и экономическая эффективность ПЦР и бактериологических исследований / Н.А. Бадыгина, С.А. Костюк // Актуальные вопросы теоретической и практической медицины: сборник науч. стат., посвящ. 20-летию со дня Чернобыльской катастрофы, Гомель, 2006 г. в 2 т. Т. 1 / Гомел. госуд. мед. ун-т; редкол.: С.В. Жаворонок, А.Л. Калинин, Е.Ю. Дорошкевич [и др.] – Гомель, 2006. – Т.1. – С. 30–32.

12. Бадыгина, Н.А. Сравнительный анализ методической и экономической эффективности ПЦР с различными способами детекции продуктов амплификации / Н.А. Бадыгина // Актуальные вопросы теоретической и практической медицины: сборник науч. стат., посвящ. 20-летию со дня Чернобыльской катастрофы, Гомель, 2006 г. в 2 т. Т. 1 / Гомел. госуд. мед. ун-т; редкол.: С.В. Жаворонок, А.Л. Калинин, Е.Ю. Дорошкевич [и др.] – Гомель, 2006. – Т.1. – С. 27–29.

Материалы конференций

13. Выявление видовой специфичности возбудителей урогенитальных инфекций, вызывающих осложнения течения беременности, послеродового периодов методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) / Г.Я. Хулуп, С.А. Костюк, Н.А. Бадыгина, М.Н. Исмаил // Материалы юбилейной научно-практической конференции, посвящ. 40-летию ЦНИЛ и 55-летию СНО ВГМУ, Витебск, 17-18 дек. 2003 г. / ВГМУ – Витебск, 2003. – С. 402–405.

14. Клиническая оценка развития осложнений беременности при инфицированности родовых путей наиболее часто встречаемыми возбудителями сексуально-трансмиссивных заболеваний, выявленными методом ПЦР диагностики / М.Н. Исмаил, Н.А. Бадыгина, С.А. Костюк, Т.А. Сержан // Материалы юбилейной научно-практической конференции, посвящ. 40-летию ЦНИЛ и 55-летию СНО ВГМУ, Витебск, 17-18 дек. 2003 г. / ВГМУ – Витебск, 2003. – С. 373–375.

15. Роль возбудителей инфекции урогенитального тракта, выявленных методом ПЦР-диагностики, в развитии осложнений беременности / Г.Я. Хулуп, М.А. Исмаил, Н.А. Бадыгина, С.А. Костюк // Актуальные вопросы современной медицины: материалы 56-ой итог. научн. конф. студ. и молод. учен. ВГМУ, Витебск, 28-29 апр. 2004 г. / ВГМУ – Витебск, 2004. – С. 269–271.

16. Роль возбудителей сексуально-трансмиссивных заболеваний в развитии тяжелых перинатальных осложнений / М.Н. Исмаил, Н.А. Бадыгина, Г.Я. Хулуп, Л.П. Касько // The events of the year gynecology and obstetrics: book of abstracts of 1st Euro-Asian Congress, Saint Petersburg, 20-22 may 2004 г. / Мин. здрав. России. – Санкт-Петербург, 2004. – С. 31.

17. Бадыгина, Н.А. Использование гибридационного метода детекции результатов полимеразной цепной реакции при оценке наличия ДНК возбудителей урогенитальных инфекций в биологическом материале / Н.А. Бадыгина, С.А. Костюк, Г.Я. Хулуп // Актуальные вопросы внутренних болезней: материалы науч. конф., посв. 80-летию со дня рождения проф. И.П. Данилова, Минск, 15 окт. 2004 г. / БГМУ; под ред. В.П. Царева – Минск, 2004. – С. 27–28.

18. Костюк, С.А. Анализ наличия ДНК Chlamydia trachomatis, Ureaplasma urealyticum и Mycoplasma hominis гибридационным методом детекции продуктов амплификации / С.А. Костюк, Н.А. Бадыгина, Г.Я. Хулуп // Проблемы инфекционной патологии XXI века: материалы юбил. конф., посвящ. 80-летию НИИЭМ, Минск, 27–28 октяб. 2004г. / НИИЭМ; под. ред. Л.П. Титов. – Минск, 2004. – С. 398–400.

19. Значение возбудителей инфекции урогенитального тракта, выявленных методом полимеразной цепной реакции, в развитии патологии течения беременности / Г.Я. Хулуп, С.М. Михалевич, М.Н. Исмаил, С.А. Костюк, Н.А. Бадыгина // Современные подходы к диагностике, лечению и профилактике инфекций передаваемых половым путем: материалы Междунар. науч.- практ. конф. Гродно, 2005 г. / Рецепт. Приложение. – 2005. – С.116–118.

20. Бадыгина, Н.А. Количественное определение уровня микоплазменной нагрузки у беременных традиционным микробиологическим методом и методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени (ПЦР-РВ) / Н.А. Бадыгина // Актуальные проблемы медицины: материалы респ. науч.-практ. конф. и 15-й науч. сессии Гомел. госуд. мед. универ., посвящ. 60-летию Победы в Великой Отечественной войне, Гомель. 18-20 мая 2005 г. Выпуск 6. в 5 т. Т. 1 / ГГМУ; редкол.: С.В. Жаворонок [и др.] – Гомель, 2005. Т. 1. – С. 43–45.

21. Бадыгина, Н.А. Количественная оценка числа копий ДНК Ureaplasma urealyticum и Mycoplasma hominis методом ПЦР в реальном времени для контроля эффективности лечения / Н.А. Бадыгина // Достижения молодых ученых - майбутне медицини: матеріали науково-практичної

конференції молодих вчених, Харків, 22 листопада 2005 р. / ХМАПО: відповід.: О.В. Кубрак [и др.]. – С.7–8.

22. Бадыгина, Н.А. Эффективность ПЦР – диагностики при различных способах детекции амплифицированной ДНК / Н.А. Бадыгина // Настоящее и будущее последипломного образования: материалы респ. науч.-практ. конф., посвящ. 75-летию БелМАПО, Минск, 19–20 окт. 2006г. в 2 т. Т. 2 / БелМАПО; редкол.: В.И. Жарко [и др.] – Минск, 2006. – С. 24 – 26.

Инструкция по применению

23. Инструкция по применению прямого флуоресцентно-гибризационного анализа ДНК хламидии трахоматис, микоплазмы гоминис и уреоплазмы уреалитикум, амплифицированной методом полимеразной цепной реакции: утв. М-вом здравоохранения 13.05.2005. – Минск, 2005. – 5 с.

Решение о выдаче патента на изобретение

24. Решение о выдаче патента на изобретение «Способ определения концентрации ДНК *Mycoplasma hominis* и *Ureaplasma urealyticum* в эпителиальных клетках» от 21.01.2008г. № 20050482, выдана национальным центром интеллектуальной собственности / Н.А. Бадыгина, Г.Я. Хулуп, С.А. Костюк.

Уведомление о положительном результате предварительной экспертизы на выдачу патента на изобретение

25. Уведомление о положительном результате предварительной экспертизы на выдачу патента на изобретение «Способ создания калибратора ДНК *Ureaplasma urealyticum* или *Mycoplasma hominis*» от 16.05.06г. №а20060463 / Г.Я. Хулуп, Н.А. Бадыгина, С.А. Костюк, А.М. Кустанович



Дыягностыка інфекцый урагенітальнага тракту ў цяжарных шляхам колькаснага вызначэння ДНК метадам палімеразная ланцуговая рэакцыя

Ключавыя словы: дыягностыка ўрагенітальных інфекцый, якасная палімеразная ланцуговая рэакцыя (ПЛР), колькасная ПЛР у рэальным часе (ПЛР-РЧ), ДНК *Ureaplasma urealyticum* (*Ur. ur.*), ДНК *Mycoplasma hominis* (*M. h.*).

Мэта работы: павялічыць эфектыўнасць дыягностыкі інфекцый урагенітальнага тракту на аснове выкарыстання дыферэнцыраванага падыходу да выбару метад дэтэкцыі ампліфікаванай ДНК і ўдасканалення метадыкі ПЛР-РЧ для колькаснага вызначэння ДНК *Ur. ur.* і *M. h.* у саскрэбе эпителиальных клетак з урагенітальнага тракту цяжарных.

Метады даследавання і выкарыстаная апаратура: ПЛР з электрафарэзнай дэтэкцыяй («Тэрцык МС2»), ПЛР з гібрыдзацыйнай дэтэкцыяй (ФФМ-01), ПЛР-РЧ з аналізам крывых плаўлення («Rotor-Gene-3000», Аўстралія), колькасная ПЛР-РЧ, бактэрыялагічная дыягностыка і статыстычны аналіз.

Атрыманя вынікі і іх навізна: вызначэна, што ў цяжарных з ускладненнямі перыяду гестацыі і спадарожнымі захворваннямі мочапалавой сістэмы ступень выражанасці клінічных праяўленняў хламідыйна-мікоплазмна-трыхаманаднай інфекцыі ўрагенітальнага тракту залежыць ад наяўнасці інфекцыі ў мона- ці мікст- стане. Распрацаваны дыферэнцыраваны падыход да выбару найбольш адэкватнага спосабу дэтэкцыі ампліфікаванай метадам ПЛР ДНК. Удасканалена метадыка ПЛР-РЧ для колькаснага вызначэння ДНК *Ur. ur.* і *M. h.* у саскрэбе эпителиальных клетак з урагенітальнага тракту цяжарных. Упершыню з выкарыстаннем ўдасканаленай ПЛР-РЧ вызначана дыягнастычна значная канцэнтрацыя ДНК *Ur. ur.* і *M. h.* у саскрэбе эпителиальных клетак з урагенітальнага тракту цяжарных: $\geq 10^5$ копіяў/мл ДНК гену *ureB* і $\geq 10^5$ копіяў/мл ДНК гену *16SPHK M. h.* у 1 мл раствору нуклеінавых кіслотаў; у разліку на 1 клетку чалавека ў даследаваным біялагічным матэрыяле - $>0,3$ клетак урэаплазм і $>0,2$ клетак мікаплазм.

Галіна прымянення: клінічная лабараторная дыягностыка, акушэрства і гінекалогія, уралогія, дэрматавенералогія.

Бадыгина Наталья Александровна

Диагностика инфекций урогенитального тракта у беременных путем количественного определения ДНК методом полимеразной цепной реакции

Ключевые слова: диагностика инфекций урогенитального тракта, качественная полимеразная цепная реакция (ПЦР), количественная ПЦР в реальном времени (ПЦР-РВ), ДНК *Ureaplasma urealyticum* (*Ur. ur.*), ДНК *Mycoplasma hominis* (*M. h.*).

Цель работы: повысить эффективность диагностики инфекций урогенитального тракта на основе использования дифференциального подхода к выбору метода детекции амплифицированной ДНК и усовершенствования методики ПЦР-РВ для количественного определения ДНК *Ur. ur.* и *M. h.* в соскобе эпителиальных клеток из урогенитального тракта беременных.

Методы исследования и использованная аппаратура: ПЦР с электрофоретической детекцией («Терцик МС2», РФ), ПЦР с гибридизационной детекцией (ФФМ-01, РФ), ПЦР-РВ с анализом кривых плавления («Rotor-Gene-3000», Австралия), количественная ПЦР-РВ, бактериологическая диагностика и статистический анализ.

Полученные результаты и их новизна: установлено, что у беременных с осложнениями периода гестации и сопутствующими заболеваниями мочеполовой системы степень выраженности клинических проявлений хламидийно-микоплазменно-трихомонадной инфекции урогенитального тракта зависит от наличия инфекции в моно- или микст- состоянии. Разработан дифференциальный подход к выбору наиболее адекватного способа детекции амплифицированной методом ПЦР ДНК. Усовершенствована методика ПЦР-РВ для количественного определения ДНК *Ur. ur.* и *M. h.* в соскобе эпителиальных клеток из урогенитального тракта беременных. Впервые с использованием усовершенствованной ПЦР-РВ установлена диагностически значимая концентрация ДНК *Ur. ur.* и *M. h.* в соскобе эпителиальных клеток из урогенитального тракта беременных: $\geq 10^5$ копий ДНК гена *ureB* *Ur. ur.* и $\geq 10^5$ копий ДНК гена *16SPIIK* *M. h.* в 1 мл раствора нуклеиновых кислот; в расчете на 1 клетку человека в исследуемом биологическом материале - $>0,3$ клеток уреаплазм и $>0,2$ клеток микоплазм.

Область применения: клиническая лабораторная диагностика, акушерство и гинекология, урология, дерматовенерология.

Badygina Natalia Aleksandrovna

Urogenital tract infections diagnostic in pregnant women by quantitative determination DNA using polymerase chain reaction

Key words: urogenital tract infection diagnostic, qualitative polymerase chain reaction (PCR), quantitative real time PCR (RT-PCR), *Ureaplasma urealyticum* (*Ur. ur.*) DNA, *Mycoplasma hominis* (*M. h.*) DNA.

Object: Improve the effectiveness of urogenital tract infections diagnostic on the ground of using differential approach to amplified DNA detection method choice and developing of the RT-PCR technique for quantitative detection *Ur. ur.* and *M. h.* DNA in epithelial cells scrape of pregnant women urogenital tract.

Methods and equipment: PCR with electrophoretic detection («Terchi MC2», RF), PCR with hybridization detection (FFM-01, RF), RT-PCR with melting curve analysis («Rotor-Gene-3000», Australia), quantitative RT-PCR, bacteriological diagnostic and statistical analysis.

Results and novelty: it was established that in pregnant women with gestation period complications and attendant urino-genital system diseases the rate of urogenital tract chlamydial-mycoplasmal-trichomonal infection clinical manifestation expression depends on mono- and/or mixt- infection presence. Differential approach to the choice of the most adequate PCR amplified DNA detection method was developed. Method of PCR-RT for quantitative *Ur. ur.* and *M. h.* DNA detection in epithelial cells scrape of pregnant women urogenital tract was improved. By using RT-PCR for the first time it was ascertained pathologically significant *Ur. ur.* and/or *M. h.* DNA concentration in epithelial cells scrape of pregnant women urogenital tract: for *Ur. ur.* - $\geq 10^5$ copies DNA gene *ureB* and for *M. h.* - $\geq 10^5$ copies gene *16SRNA* in 1 ml nucleic acid solution; calculating per 1 human cell in research biological material $>0,3$ ureaplasma cells, and $>0,2$ mycoplasma cells.

Application: clinical laboratory diagnostic, obstetrics and gynecology, urology, dermatovenereology.