

УДК 616.97  
ББК 55.8  
П50

**Авторский коллектив:**

Молочков В.А., Кириченко И.М., Кривошеин Ю.С.,  
Хайтович А.Б., Андроновская И.Б., Латыпова М.Ф.,  
Несвижский Ю.В., Смирнов И.В., Щербо С.Н.

Полимеразная цепная реакция и ее применение для диагностики в  
П50 дерматовенерологии / Под ред. А.А. Воробьева. — М.: Медицинское  
информационное агентство, 2004. — 72 с.

ISBN 5-89481-202-X

В учебном пособии представлены литературные данные по использованию метода полимеразной цепной реакции (ПЦР) в диагностике различных патологических состояний, вызванных возбудителями ИППП. Приведены теоретические основы метода, практические рекомендации по его проведению, условия работы с материалом, указаны преимущества и недостатки метода, перечень оборудования, которое используется при ПЦР-диагностике. Представлена характеристика чувствительности и специфичности метода, экспрессности получения конечного результата по сравнению с традиционно используемыми культуральными и иммunoхимическими методами, возможность применения его для выявления возбудителей острых и латентных инфекций, а также труднокультивируемых и некультивируемых форм патогенных микроорганизмов. В пособии также отмечены возможности выявления специфической ДНК непосредственно в клиническом материале (кровь, сыворотка, мокрота, смывы) без выделения чистой культуры, а также использования ПЦР для выявления лекарственной устойчивости микроорганизмов.

Для студентов медицинских вузов, а также интернов, ординаторов и врачей.

УДК 616.97  
ББК 55.8

© Коллектив авторов, 2004

© Оформление ООО «Медицинское  
информационное агентство», 2004

Все права защищены. Никакая часть данной книги не может быть воспроизведена в какой бы то ни было форме без письменного разрешения владельцев авторских прав.

ISBN 5-89481-202-X

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

Введение ..... 1	1
1. Теоретические и практические основы проведения ПЦР ..... 2	2
1.1. Организация генетического материала прокариот ..... 3	3
1.2. Принципы ПЦР ..... 5	5
1.3. Технология проведения ПЦР ..... 6	6
1.3.1. Компоненты, необходимые для проведения ПЦР ..... 7	7
1.3.2. Компоновка тест-систем ..... 10	10
1.3.3. Контроль ..... 11	11
1.3.4. Проведение ПЦР ..... 12	12
1.3.5. Получение и интерпретация результатов ..... 15	15
1.4. Особенности работы в ПЦР-лаборатории ..... 16	16
Глава 2. Применение ПЦР для диагностики инфекционных болезней ..... 17	17
2.1. Общие сведения ..... 18	18
2.2. Применение ПЦР в диагностике ИППП ..... 19	19
2.2.1. Возбудитель сифилиса — <i>Treponema pallidum</i> ..... 20	20
2.2.2. Возбудитель гонореи — <i>Neisseria gonorrhoeae</i> ..... 21	21
2.2.3. Возбудители микоплазмозов и уреаплазмозов — роды <i>Mycoplasma</i> и <i>Ureaplasma</i> ..... 22	22
2.2.4. Возбудители хламидиоза — род <i>Chlamydia</i> ..... 23	23

## СОДЕРЖАНИЕ

Список сокращений ..... 5	5
Введение ..... 6	6
<b>Глава 1. Теоретические и практические основы проведения ПЦР</b> ..... 8	8
1.1. Организация генетического материала прокариот ..... 8	8
1.2. Принципы ПЦР ..... 10	10
1.3. Технология проведения ПЦР ..... 16	16
1.3.1. Компоненты, необходимые для проведения ПЦР ..... 16	16
1.3.2. Компоновка тест-систем ..... 19	19
1.3.3. Контроль ..... 20	20
1.3.4. Проведение ПЦР ..... 20	20
1.3.5. Получение и интерпретация результатов ..... 21	21
1.4. Особенности работы в ПЦР-лаборатории ..... 26	26
<b>Глава 2. Применение ПЦР для диагностики инфекционных болезней</b> ..... 34	34
2.1. Общие сведения ..... 34	34
2.2. Применение ПЦР в диагностике ИППП ..... 38	38
2.2.1. Возбудитель сифилиса — <i>Treponema pallidum</i> ..... 38	38
2.2.2. Возбудитель гонореи — <i>Neisseria gonorrhoeae</i> ..... 39	39
2.2.3. Возбудители микоплазмозов и уреаплазмозов — роды <i>Mycoplasma</i> и <i>Ureaplasma</i> ..... 40	40
2.2.4. Возбудители хламидиоза — род <i>Chlamydia</i> ..... 42	42

<b>2.3. Применение ПЦР для диагностики вирусных инфекций, в том числе передаваемых половым путем .....</b>	<b>46</b>
2.3.1. Вирусы иммунодефицита человека .....	46
2.3.2. Папилломавирусная инфекция .....	48
2.3.3. Вирусы гепатитов .....	50
2.3.4. Герпесвирусы .....	54
<b>2.4. Применение ПЦР для диагностики некоторых бактериальных инфекций, вызывающих поражение кожи .....</b>	<b>57</b>
2.4.1. Возбудитель туберкулеза — <i>Mycobacterium tuberculosis</i> ...	57
2.4.2. Возбудитель боррелиоза — <i>Borrelia burgdorferi</i> .....	60
<b>2.5. Использование ПЦР для диагностики микозов .....</b>	<b>61</b>
2.5.1. Возбудитель кандидоза — <i>Candida albicans</i> .....	61
2.5.2. Возбудители других микозов .....	62
<b>Глава 3. Использование ПЦР для выявления лекарственной резистентности микроорганизмов .....</b>	<b>64</b>
<b>Заключение .....</b>	<b>67</b>
<b>Список литературы .....</b>	<b>68</b>

в значительной мере, краткостью периода использования ПЦР для клинической диагностики, ограниченность широкими для ее потенциальных возможностях и освещенностью трансляции.

Преизданные методическое описание — это попытка систематизировать информацию о некоторых теоретических и практических основах использования ПЦР для лабораторной диагностики в дерматовенерологии и показать спектр возможностей тех-

## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ВГ	— вирус герпеса
ВИЧ	— вирус иммунодефицита человека
ВПГ	— вирус простого герпеса
ВЭБ	— вирус Эпштейна—Баррса
ДНК	— дезоксирибонуклеиновая кислота
дНТФ	— диоксинуклеозидтрифосфат
ИБ	— иммуноблоттинг
ИППП	— инфекции, передаваемые половым путем
ИФА	— иммуноферментный анализ
ОТ	— обратная транскриптаза
ПЦР	— полимеразная цепная реакция
РИА	— радиоиммунный анализ
РНК	— рибонуклеиновая кислота
РПГА	— реакция пассивной гемагглютинации
СМЖ	— спинномозговая жидкость
ЦМВ	— цитомегаловирус
BV-Z	— вирус varicella-zoster

в значительной мере, краткостью периода использования ПЦР для клинической диагностики, ограниченностью информации о ее потенциальных возможностях и особенностях применения.

Предлагаемое методическое пособие — это попытка систематизировать информацию о некоторых теоретических и практических основах использования ПЦР для лабораторной диагностики в дерматовенерологии и показать спектр возможностей метода в клинической практике.

Самый распространенный метод диагностики инфекционных заболеваний — это определение антигена или антиплазмидного белка, выделяемого из клеток организма. Методика начинается с отбора из матричной ДНК набольшой молекулы РНК, содержащей около 10 нуклеотидов, с последующим ее расщеплением на небольшие фрагменты. Время расщепления ДНК происходит очень интенсивно — за 1 с к матричной

ДНК приходят отрывки длиной 10–15 нуклеотидов, состоящие из отдельных фрагментов, различающихся по длине и расположению нуклеотидов.

Методика включает в себя обработку образца, выделение ДНК, денатурацию ДНК, гибридизацию с мечеными нуклеотидами, выявление гибридизировавшихся нуклеотидов и их количественное определение. В результате получают картину гибридизации ДНК с мечеными нуклеотидами, характеризующую наличие или отсутствие определенных генов в исследуемом образце.

После гибридизации с мечеными нуклеотидами ДНК с мечеными нуклеотидами вновь денатурируется, и меченные нуклеотиды выявляются с помощью радиоактивных маркеров. В результате получают картину гибридизации ДНК с мечеными нуклеотидами, характеризующую наличие или отсутствие определенных генов в исследуемом образце.

При использовании ПЦР метода для выявления определенных генов в образце необходимо знать, какие гены присутствуют в исследуемом образце, а также, какими способами можно выявить эти гены.

При использовании ПЦР метода для выявления определенных генов в образце необходимо знать, какие гены присутствуют в исследуемом образце, а также, какими способами можно выявить эти гены.

## ВВЕДЕНИЕ

Выявление и идентификация возбудителей инфекционных заболеваний является одной из основных задач современной медицинской микробиологии. При микробиологических исследованиях возникают ситуации, когда использование традиционных культуральных, а также современных иммунохимических методов диагностики оказывается недостаточным для идентификации возбудителя, что заставляет создавать и внедрять принципиально новые методы выявления и идентификации патогенов. В последнее десятилетие происходит стремительное развитие генетических методов диагностики инфекционных заболеваний, основанных на детекции специфических нуклеотидных последовательностей инфекционных агентов, среди которых лидирует метод полимеразной цепной реакции (ПЦР) и его модификации. Разработка в конце 80-х годов XX столетия методов циклической амплификации (умножения) фрагментов генома и внедрение ее в клиническую микробиологическую диагностику позволило упростить и ускорить выявление микроорганизмов по их генетическим маркерам. Это дает возможность в значительной мере повысить эффективность выявления возбудителей, тем самым увеличить потенциальные возможности лабораторной диагностики и постановки точного клинического диагноза.

Среди причин, сдерживающих широкое внедрение ПЦР метода в клиническую лабораторную практику, можно назвать недостаточный уровень информированности медицинских работников о методических подходах в его применении. Это обусловлено,