

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.

П50 Полимеразная цепная реакция и ее применение для диагностики в дерматовенерологии / Под ред. А.А. Воробьева. — М.: Медицинское информационное агентство, 2004. — 72 с.
ISBN 5-89481-202-х

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 иммунохимическими 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

СОДЕРЖАНИЕ

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

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

Глава 3. Использование ПЦР для выявления лекарственной резистентности микроорганизмов

Заключение

Список литературы

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ВГ	— вирус герпеса
ВИЧ	— вирус иммунодефицита человека
ВПГ	— вирус простого герпеса
ВЭБ	— вирус Эпштейна—Барр
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.

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,