

Медико-биологические проблемы жизнедеятельности

Научно-практический рецензируемый журнал

№ 2(30)

2023 г.

Учредитель

Государственное учреждение
«Республиканский научно-
практический центр
радиационной медицины
и экологии человека»

Журнал включен в Перечень научных изданий Республики Беларусь для опубликования диссертационных исследований по медицинской и биологической отраслям науки (31.12.2009, протокол 25/1)

Журнал зарегистрирован
Министерством информации
Республики Беларусь,
Свид. № 762 от 6.11.2009

Подписано в печать 25.09.23
Формат 60×90/8. Бумага мелованная.
Гарнитура «Times New Roman».
Печать цифровая. Тираж 120 экз.
Усл. печ. л. 15,5. Уч.-изд. л. 9,54.
Зак. 556.

Издатель ГУ «Республиканский
научно-практический центр
радиационной медицины и
экологии человека»
Свидетельство N 1/410 от 14.08.2014

Отпечатано в КУП
«Редакция газеты
«Гомельская праўда»
г. Гомель, ул. Полесская, 17а

ISSN 2074-2088

Главный редактор, председатель редакционной коллегии

А.В. Рожко (д.м.н., профессор)

Редакционная коллегия

В.С. Аверин (д.б.н., профессор, зам. гл. редактора), В.В. Аничкин (д.м.н., профессор), В.Н. Беляковский (д.м.н., профессор), К.Н. Буздакин (к.т.н., доцент), Н.Г. Власова (д.б.н., профессор, научный редактор), А.В. Величко (к.м.н., доцент), И.В. Веякин (к.б.н., доцент), А.В. Воропаева (к.б.н., доцент), Д.И. Гавриленко (к.м.н.), М.О. Досина (к.б.н., доцент), А.В. Жарикова (к.м.н.), С.В. Зыблева (к.м.н., доцент, отв. секретарь), С.А. Игумнов (д.м.н., профессор), А.В. Коротаяев (к.м.н., доцент), Д.В. Кравченко (к.м.н.), А.Н. Лызинов (д.м.н., профессор), А.В. Макарич (к.м.н., доцент), С.Б. Мельнов (д.б.н., профессор), В.М. Мишура (д.м.н., доцент), Я.Л. Навменова (к.м.н., доцент), Э.А. Надьров (к.м.н., доцент), И.А. Новикова (д.м.н., профессор), Э.Н. Платошкин (к.м.н., доцент), Э.А. Повелица (к.м.н.), А.С. Подгорная (к.м.н.), Ю.И. Рожко (к.м.н., доцент), И.П. Ромашевская (к.м.н.), М.Г. Русаленко (к.м.н., доцент), А.П. Саивончик (к.б.н.), А.Е. Силин (к.б.н., доцент), А.Н. Стожаров (д.б.н., профессор), И.О. Стома (д.м.н., профессор), Н.И. Шевченко (к.б.н., доцент), Ю.И. Ярец (к.м.н., доцент)

Редакционный совет

А.В. Аклеев (д.м.н., профессор, Челябинск), О.В. Алейникова (д.м.н., чл.-кор. НАН РБ, Минск), С.С. Алексанин (д.м.н., профессор, Санкт-Петербург), Д.А. Базыка (д.м.н., профессор, Киев), А.П. Бирюков (д.м.н., профессор, Москва), Е.Л. Богдан (Минск), Л.А. Бокерия (д.м.н., академик РАН и РАМН, Москва), А.Ю. Бушманов (д.м.н., профессор, Москва), И.И. Дедов (д.м.н., академик РАМН, Москва), В.И. Жарко (Минск), М.П. Захарченко (д.м.н., профессор, Санкт-Петербург), Л.А. Ильин (д.м.н., академик РАМН, Москва), К.В. Котенко (д.м.н., профессор, Москва), В.Ю. Кравцов (д.б.н., профессор, Санкт-Петербург), Е.Н. Кроткова (к.м.н., доцент, Минск), Н.Г. Кручинский (д.м.н., профессор, Пинск), Т.В. Мохорт (д.м.н., профессор, Минск), Д.Л. Пиневиц (МЗ РБ, Минск), В.Ю. Рыбников (д.м.н., профессор, Санкт-Петербург), Н.Д. Тронько (д.м.н., чл.-кор. НАН, акад. НАМН Украины, Киев), А.Л. Усс (д.м.н., профессор, Минск), В.А. Филонюк (д.м.н., профессор, Минск), Р.А. Часнойть (к.э.н., Минск), В.Д. Шило (Минск)

Технический редактор

С.Н. Никонович

Адрес редакции 246040 г. Гомель, ул. Ильича, д. 290,

ГУ «РНПЦ РМ и ЭЧ», редакция журнала
тел (0232) 38-95-00, факс (0232) 37-80-97
<http://www.mbp.rcrm.by> e-mail: mbp@rcrm.by

© Государственное учреждение
«Республиканский научно-практический центр
радиационной медицины и экологии человека», 2023

№ 2(30)

2023

Medical and Biological Problems of Life Activity

Scientific and Practical Journal

Founder

Republican Research Centre
for Radiation Medicine
and Human Ecology

Journal registration
by the Ministry of information
of Republic of Belarus

Certificate № 762 of 6.11.2009

© Republican Research Centre
for Radiation Medicine
and Human Ecology

ISSN 2074-2088

Обзоры и проблемные статьи**Reviews and problem articles**

С.В. Зыблева, Ю.И. Рожко, А.В. Жарикова, Б.О. Кабешев, С.Л. Зыблев

S.V. Zybleva, Yu.I. Rozhko, A.V. Zharikova, B.O. Kabeshev, S.L. Zyblev

Роль N-ацетилцистеина в терапии заболеваний, характеризующихся окислительным стрессом (обзор литературы) 6

The role N-acetylcysteine (nac) in the therapy of diseases characterized by oxidative stress (literature review)

Медико-биологические проблемы**Medical-biological problems**

Н.Н. Веялкина, Л.А. Белая, О.С. Аксёненко, А.Е. Сусленкова, Е.А. Медведева

N.N. Veialkina, L.A. Belaia, O.S. Aksenenko, A.E. Suslenkova, E.A. Medvedeva

Влияние хронического рентгеновского облучения в малых дозах на грудной отдел в эксперименте 17

Effect of chronic X-ray irradiation in low doses on the thoracic region in an experiment

И.Е. Гурьянова, Е.А. Полякова, К. Суффритти, Л.Б. Коростелева, С.Н. Алешкевич, Ю.С. Жаранкова, М.В. Белевцев

I.E. Guryanova, E.A. Polyakova, C. Suffritti, L.B. Korosteleva, S.N. Aleshkevich, Y.S. Zharankova, M.V. Belevtsev

Клиническая эффективность применения метода по определению расщепленного высокомолекулярного кининогена в диагностике наследственного ангиоотека 23

Clinical efficiency of the cleaved high-molecular-weight kininogen detection in the diagnosis of hereditary angioedema

А.-М.В. Ерофеева, С.В. Пинчук, С.Н. Рябцева, А.Ю. Молчанова

A.-M. Yerofeyeva, S. Pinchuk, S. Rjabceva, A. Molchanova

Активация каннабиноидных рецепторов II типа как вариант потенцирования мезенхимальных стволовых клеток в модели периферической нейропатической боли 29

Activation of type II cannabinoid receptors as variant for mesenchymal stem cell potentiation in a model of peripheral neuropathic pain

Я.И. Исайкина, В.В. Солодовникова, Р.Л. Фролова, Ю.В. Савич, А.А. Жерносеченко, Е.М. Скрыгина

Y. Isaikina, V. Solodovnikova, R. Frolova, U. Savich, H. Zhernasechanka, A. Skrahina

Мезенхимальные стволовые клетки из костного мозга пациентов с лекарственно-устойчивым туберкулезом для применения в клеточной терапии 40

Mesenchymal stem cells from bone marrow of patients with drug-resistant tuberculosis for cellular therapy

М.В. Кадука, Т.А. Бекяшева, С.А. Иванов, В.В. Ступина

M.V. Kaduka, T.A. Bekjasheva, S.A. Ivanov, V.V. Stupina

Содержание изотопов урана в некоторых видах пищевых продуктов. Оптимизация метода определения 46

Uranium isotopes content in the certain types of foodstuffs. Optimization of the analytical method

Е.К. Нилова, К.Н. Бuzдалкин		E.K. Nilova, K.N. Buzdalkin	
Геометрический фактор для оценки плотности загрязнения почвы <i>in-situ</i>	54	Geometry factor for <i>in-situ</i> soil contamination density estimation	
А.М. Островский, И.Н. Коляда		A.M. Ostrovsky, I.N. Kolyada	
Анализ смертности населения Гомельской области от инфекционных и паразитарных болезней в 2009-2019 гг.	62	Mortality analysis of the Gomel region population from infectious and parasitic diseases in 2009-2019	
Н.В. Поклонская, Ю.А. Шилова, Т.В. Амвросьева		N.V. Paklonskaya, Yu.A. Shilova, T.V. Amvrosieva	
Метод мультиплексной полимеразной цепной реакции для диагностики вирусной кишечной инфекции неуточненной	69	Multiplex polymerase chain reaction method for the diagnosis of unspecified viral acute gastroenteritis	

Клиническая медицина

Clinical medicine

Л.И. Данилова, В.А. Рожко, И.В. Веялкин, И.Г. Савастеева, С.Н. Никонович, Т.М. Шаршакова		L.I. Danilova, V.A. Rozhko, I.V. Veyalkin, I.G. Savasteeva, S.N. Nikonovich, T.M. Sharshakova	
Клинико-лабораторные особенности аутоиммунного тиреоидита у субъектов когорты по результатам скрининга	74	Clinical and laboratory features of autoimmune thyroiditis in subjects of the cohort according to the results of screening	
А.Ю. Захарко, А.С. Подгорная, О.В. Мурашко, Т.В. Статкевич, А.Р. Ромбальская		A.Yu. Zaharko, A.S. Podgornaya, O.V. Murashko, T.V. Statkevich, A.R. Rombalskaya	
Течение беременности, родов, состояние фетоплацентарного комплекса у женщин с абдоминальным ожирением и гипертензивными расстройствами	88	Course of pregnancy, delivery, the state of the fetoplacental complex in women with abdominal obesity and hypertensive disorders	
В.В. Крюков		V.V. Kryukov	
Состояние когнитивной сферы участников ликвидации последствий аварии на ЧАЭС	95	The state of the cognitions of clean-up workers of the consequences of the Chernobyl accident	
Д.М. Лось, В.С. Волчек		D. Los', V. Volchek	
Оценка осведомленности женского населения Гомельской области о профилактике и ранней диагностике рака молочной железы	106	Assessment of awareness of the female population of Gomel region about prevention and early diagnosis of breast cancer	
Н.А. Песковая, А.В. Солнцева		N.A. Peskavaya, A.V. Solntsava	
Факторы снижения минеральной плотности костной ткани у детей с синдромом Шерешевского-Тернера	111	Factors of reduced bone mineral density in children with Turner syndrome	

Обмен опытом**Experience exchange**

Н.А. Метляева, А.Ю. Бушманов, И.А. Галстян, В.Ю. Нугис, М.В. Кончаловский, О.В. Щербатых, Ф.С. Торубаров, Е.О. Нечаева, А.С. Кретов, В.В. Кореньков

Психофизиологическая оценка индивидуальных особенностей личности у двух пациентов с тяжелыми местными лучевыми поражениями кистей рук и острой лучевой болезнью I степени (30 лет наблюдения)

N.A. Metlyeva, A.Yu. Bushmanov, I.A. Galstyan, V.Yu. Nugis, M.V. Konchalovsky, O.V. Shcherbatykh, F.S. Torubarov, E.O. Nechaeva, A.S. Kretov, V.V. Korenkov

Psychophysiological Assessment of Individual Personality in Two Patients with Severe Local Radiation Injuries (LRI) of Hand and Acute Radiation Sickness (ARS) I Degree (30 Years of Follow-up)

УДК 616.34-002-036.11:578.8:579.61:616-078(476)
DOI: 10.58708/2074-2088.2023-2(30)-69-73

Н.В. Поклонская, Ю.А. Шилова,
Т.В. Амвросьева

МЕТОД МУЛЬТИПЛЕКСНОЙ ПОЛИМЕРАЗНОЙ ЦЕПНОЙ РЕАКЦИИ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ ВИРУСНОЙ КИШЕЧНОЙ ИНФЕКЦИИ НЕУТОЧНЕННОЙ

ГУ «РНПЦ эпидемиологии и микробиологии», г. Минск, Беларусь

Острая кишечная инфекция (ОКИ) может быть вызвана широким кругом вирусных патогенов. Детекция доминирующих возбудителей (норо-, рота-, адено-, энтеровирусов) позволяет установить этиологию 40-60% случаев ОКИ. Для увеличения доли их этиологической расшифровки целесообразно проводить исследования в отношении минорных кишечных вирусов. В настоящей статье представлен разработанный нами метод мультиплексной полимеразной цепной реакции для диагностики вирусной кишечной инфекции неуточненной. Он позволяет детектировать генетический материал астро-, сапо-, парэхо-, бока-, пикобирна- и аичи вирусов в биологическом материале (фекалии). Апробация метода позволила детектировать присутствие данных возбудителей у 4,89% пациентов с ОКИ, в биологическом материале которых отсутствовали доминирующие кишечные вирусы.

Ключевые слова: острая кишечная инфекция, полимеразная цепная реакция, метод

Введение

Диагностика острых кишечных инфекций (ОКИ) вирусной природы, которая осуществляется методом полимеразной цепной реакции (ПЦР), чаще всего включает детекцию норовирусов 1-2 геногруппы, аденовирусов гр. F, ротавирусов гр. A, энтеровирусов [1, 2]. Помимо этих патогенов в этиологию ОКИ вносят определенный вклад «минорные» вирусы – астровирусы (AcV), саповирусы (SpV), парэховирусы (ПЭВ), бокавирусы (BoV), Аичи вирусы (AiV) [3]. По данным зарубежных исследователей доля вызванных ими заболеваний может существенно варьировать и в ряде случаев может достигать значительных показателей [4]. В Европе частота ОКИ, этиологически связанных с AcV, составляет до 6,9% [5], SpV могут быть причиной от 1 до 17% ОКИ [6]. Многолетние наблюдения за циркулирующими BoV показали, что в отдельные годы их доля в структуре вирусных составляла до 11,9% [7], ПЭВ – до 19% [4], AiV – до 8% [8, 9]. Пикобирнавирусы (ПБРВ) довольно часто могут обнаруживаться в фекалиях пациен-

тов с ОКИ (до 20% [10]), однако их роль в развитии патологии подвергается сомнению. В последние годы специалистами активно высказывается мнение о том, что истинными хозяевами ПБРВ являются прокариоты, населяющие кишечник человека [11, 12]. Хотя роль каждого из минорных кишечных вирусов может быть весьма незначительной, в совокупности они могут быть ответственными за довольно большое число регистрируемых ОКИ, что диктует необходимость разработки унифицированного метода их детекции. Такой подход позволит с минимальными трудозатратами провести исследования в отношении каждого из этих возбудителей и, при необходимости, например, при расшифровке групповой заболеваемости, быстро установить этиологию ОКИ.

Основываясь на вышеизложенном, целью настоящего исследования явилась разработка метода мультиплексной полимеразной цепной реакции для одновременной детекции AcV, SpV, BoV, ПЭВ, AiV, ПБРВ и ее апробация при осуществлении диагностики ОКИ неустраненной этиологии.

Материал и методы исследований

Материалом для исследований биологического материала служили образцы фекалий (N=368) пациентов (дети и взрослые) с ОКИ, с клиническими признаками острого гастроэнтерита (ОГЭ), в биологическом материале которых отсутствовали доминирующие их возбудители (РВ, НоВ1, Нов2, АдВ, ЭВ). Данный материал был получен из Минского городского центра гигиены и эпидемиологии (ЦГЭ) и всех областных ЦГЭ Республики Беларусь в 2021 г.

Детекцию РНК СпВ, ПЭВ, АсВ, ПБРВ, АиВ, ДНК БоВ проводили с помощью праймеров и зондов методом полимеразной цепной реакции с гибридизационно-флуоресцентной детекцией в режиме «реального времени» с использованием «Набора реагентов для проведения ПЦР совмещенной с реакцией обратной транскрипции» (Синтол, Российская Федерация).

Выявление энтеровирусов, норовирусов 1-2 геногрупп, ротавирусов А, аденовирусов F в исследуемом материале осуществляли с помощью наборов «ОКВИ-ПЦР» (пр-ва РНПЦ эпидемиологии и микробиологии, Беларусь).

Полногеномные нуклеотидные выравнивания были построены с использованием программы MEGA 7.0, поиск олигонуклеотидных последовательностей, которые могут быть использованы в качестве праймеров и зондов, проводили с помощью программы Snap.Gene 3.2.1, анализ характеристик выбранных нуклеотидов – с использованием программы PrimerPremiere 6.0.

Для клонирования и последующей разработки плазмидных векторов использовали коммерческий штамм *E. coli* XL1-Blue («Novagen», США), плазмиду pJET1.2 («Novagen»). Линеаризацию плазмидного вектора осуществляли в реакционной смеси, включающей 5 ед. эндонуклеазы («Promega», США) в 1×-Multi-Core буфере («Promega»), 2 мкг ацетилизованного БСА («Promega») в расчете на 1 мкг кольцевой ДНК. Очистку компонентов векторной конструкции осуществляли с помощью набора для очистки из геля GeneJET Gel Extraction

Kit («Thermo Fisher Scientific», США). Лигирование полученного фрагмента осуществляли с использованием коммерческой лигазы бактериофага T4 («New England Biolabs», США) с внесением в эквимольном количестве ДНК очищенных фрагментов и вектора. Приготовление компетентных клеток *E. coli* XL1-Blue и их трансформацию осуществляли с помощью набора Roti Transform («Carl Roth GmbH and Co», Германия). Трансформированные клетки высевали на плотную селективную питательную среду LB с добавлением ампициллина до конечной концентрации 100 мкг/мл.

Реакцию секвенирования проводили с помощью набора «GenomLab Dye Terminator Cycle Sequencing with Quick Start Kit» (Beckman Coulter, США). Детекцию результатов осуществляли на приборе SEQ 8 000 (Beckmancoulter, США), анализ результатов – в MEGA6. Для идентификации полученных нуклеотидных последовательностей использовали интернет-ресурс BLAST [13], доступный для свободного использования по адресу <http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>

Результаты исследования

На первом этапе был выполнен дизайн комплекта праймеров и зондов и оптимизация условий постановки ОТ-ПЦР для одновременной детекции СпВ, АсВ, АиВ, БоВ, ПБРВ, ПЭВ.

Анализ множественного выравнивания полных нуклеотидных последовательностей АсВ, СпВ, АиВ, БоВ, ПЭВ, ПБРВ различных генотипов позволил установить консервативные участки, в которых может быть произведен поиск праймеров. Регионы генома вирусов, в которых было локализовано наибольшее количество олигонуклеотидных последовательностей с оптимальными характеристиками, представлены в таблице 1.

В результате биоинформационного анализа был выбран комплект праймеров для детекции каждого возбудителя (таблица 2).

Оптимизация условий ОТ-ПЦР включала определение оптимальной температуры отжига праймеров, длительности каждого шага реакции, концентрации прай-

Таблица 1 – Участки геномов СпВ, АсВ, БоВ, ПЭВ, ПБРВ оптимальные для поиска диагностических праймеров

Наименование вируса	Регион генома, нуклеотидных оснований (н.о.)
СпВ	1400-1600 н.о. и 5100-5250 н.о.
АсВ	5'- регион генома с 97 по 4656 н.о.
АиВ	1500-2500 н.о. и 6000-7100 н.о.
ПЭВ	5'- регион генома с 85 по 1134 н.о.
БоВ	50-400 н.о.
ПБРВ	2 сегмент содержащий ген РНК-зависимой РНК полимеразы. 20-500 н.о.

Таблица 2 – Последовательности праймеров для детекции АиВ, АсВ, БоВ, ПБРВ, ПЭВ, СпВ

Возбудитель	Последовательность праймеров, 5'→3'	Условное обозначение	Литер. источник
АиВ	GTCTCCACHGACACSYAAAYTGGAC	AiV-AB-F	[14]
	GTTGTACATRGCAGCCCAGG	AiV-AB-R	
	ROX-TTYTCCTTYGTGCGTGC-BHQ2	AiV-AB-TP Pr	
АсВ	TCTYATAGACCGYATTATTGG	AsVs F	[15]
	TCAAATTCTACATCATCCAA	AsVas R	
	ROX-CCCCADCCATCATCTTCATCA-BHQ2	ASTV probe Pr	
БоВ	TCAAAYGGTGCTGAYRYWAC	BVrt F	собст. разраб.
	TGYTCDCCATCACAAAADATG	BVrt R	
	FAM-AACAAYGACCTHACAGCWGG-BHQ1	BVrt Pr	
ПБРВ	GGGTGGTGTGGATGTTTC	PBiRNA1 F	собст. разраб.
	TAAARTGYTGGTCGAACTT	PBiRNA1 R	
	ROX-TCCATGCTAACCCAMGCWGG-BHQ2	PBiRNA1 Pr	
ПЭВ	AGTTGTAAGGCCACGAAG	PE505 F	собст. разраб.
	CCCCAGATCAGATCCATAGT	PE577 R	
	Cy5-CCAGAAGGTACCCGTAGGTAACAAGHGA-BHQ2	PE529p Pr	
СпВ	ACCAGGCTCTCGCCACCTA	SLVfA F	[16]
	GCCCTCCATYTCAAACACTAWTTT	SLVr R	
	FAM-CTGTACCACCTATGAACCA-BHQ1	SLVz Pr	

меров и ионов магния. Было установлено, что оптимальная температура для отжига праймеров ПБРВ составила 52°C (режим амплификации в таблице 3), а для АиВ, АсВ, БоВ, ПЭВ, СпВ – 55°C (режим амплификации в таблице 4).

Оптимальная концентрация праймеров для детекции генетического материала всех возбудителей составила 0,4 пмоль/мкл, а зондов – 0,2 пмоль/мкл, кроме концентрации для зонда ПБРВ – 0,4 пмоль/мкл. Для детекции ПБРВ оптимальной конечной концентрацией ионов магния была 2 мМ, а для остальных возбудителей – 4 мМ.

Для разработки комплекта положительных контрольных образцов для детекции СпВ, ПЭВ, АсВ, БоВ, ПБРВ, АиВ с помощью подобранных праймеров были

получены амплифицированные фрагменты ДНК, соответствующие участкам-мишеням в геномах исследуемых вирусов. Данные фрагменты были клонированы в составе вектора рJET1.2. Полученными генно-инженерными конструкциями были трансформированы клетки *E. coli* XL1-Blue. После выделения каждую конструкцию анализировали на наличие вставки с помощью ПЦР в реальном времени со специфическими праймерами, а затем производили секвенирование вставок.

Для возможности анализа большого количества проб (более 20) была отработана методика пулирования проб. Для этого осуществляли смешивание нескольких разных проб в одной пробирке (по 5 образцов). Для формирования пула смешивали

Таблица 3 – Режим ОТ-ПЦР для детекции РНК ПБРВ

Этап	Температура	Время	Измерение флуоресценции	Количество циклов
1	52°C*	15 мин	-	1
2	95°C	5 мин	-	1
3	95°C	10 сек	-	45
	52°C	30 сек (детекция флуоресцентного сигнала)	FAM, ROX	
	67°C*	15 сек	-	

Примечание: * – условия определены производителем смеси для ОТ-ПЦР

в 1 пробирке по 20 мкл каждого из 5 образцов, затем из 100 мкл полученного пула выделяли РНК/ДНК, которые использовали для постановки ОТ-ПЦР. При получении положительного результата для конкретного пула в отношении определенного возбудителя производили детекцию данного возбудителя в каждой из проб, входящих в пул, по отдельности.

Таким образом, разработанный метод мультиплексной полимеразной цепной реакции для диагностики вирусной кишечной инфекции неуточненной включал 5 этапов:

- получение проб и пробоподготовка;
- приготовление пулов;
- выделение РНК/ДНК;
- ОТ-ПЦР;
- учет и интерпретация результатов.

Разработанный метод далее был апробирован в рамках исследований, направленных на детекцию минорных кишечных вирусов (АсВ, СпВ, ПЭВ, БоВ, ПБРВ, АиВ) у 368 пациентов с клиническими признаками ОГЭ, в биологическом материале которых отсутствовали доминирующие их возбудители (ротавирусы гр А, норовирусы 1-2 геногруппы, аденовирусы гр F, энтеровирусы). Полученные результаты позволили выявить СпВ у шести обследованных пациентов (1,63%), АсВ – у двух (0,54%), БоВ – у трех (0,82%), ПБРВ – у семи (1,9%). ПЭВ и АиВ в наших исследованиях не были обнаружены (рисунок 1).

Таким образом, частота детекции ми-

Таблица 4 – Режим ОТ-ПЦР для детекции РНК/ДНК АиВ/АсВ/БоВ/ПЭВ/СпВ

Этап	Температура	Время	Измерение флуоресценции	Количество циклов
1	52°C*	15 мин	-	1
2	95°C	5 мин	-	1
3	95°C	10 сек	-	45
	55°C	30 сек (детекция флуоресцентного сигнала)	FAM, ROX, Су5	
	67°C*	15 сек	-	

Примечание: * – условия определены производителем смеси для ОТ-ПЦР

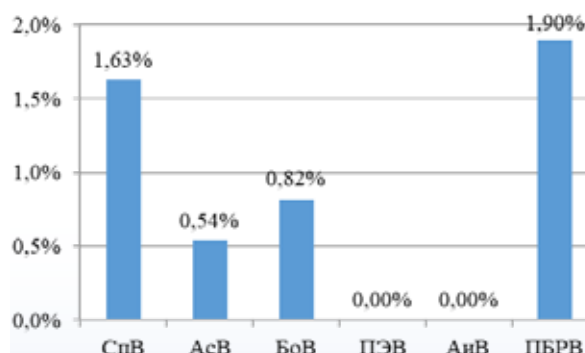


Рисунок 1 – Частота выявления СпВ, АсВ, БоВ, ПЭВ, АиВ, ПБРВ в биологическом материале пациентов с ОКИ неустановленной этиологии

норных возбудителей в данной группе пациентов с ОКИ неустановленной этиологии составила 4,89%.

Заключение

Результаты представленных в настоящей работе исследований однозначно свидетельствуют о том, что разработанный нами метод мультиплексной полимеразной цепной реакции, предназначенный для диагностики вирусной кишечной инфекции неуточненной, позволяет проводить выявление генетического материала АсВ, СпВ, ПЭВ, АиВ, БоВ, ПБРВ в образцах фекалий. Регламентируемый метод анализа вполне доступен и может быть внедрен для широкого практического использования в специализированных лабораториях.

Библиографический список.

1. Agreement between gastrointestinal panel testing and standard microbiology methods for detecting pathogens in suspected infectious gastroenteritis: Test evaluation and meta-analysis in the absence of a reference standard / K. Freeman [et al.] // PLoS ONE. – 2017. – Vol. 12, № 3. – P. e0173196.
2. Multiplex tests to identify gastrointestinal bacteria, viruses and parasites in people with suspected infectious gastroenteritis: a systematic review and economic analysis / K. Freeman [et al.] // Health Technol Assess. – 2017. – Vol. 21, № 23. – P. 1-188.
3. Oude Munnink, B. Viruses Causing Gastroenteritis: The Known, The New and Those Beyond / B. Oude Munnink, L. Van Der Hoek // Viruses. – 2016. – Vol. 8, № 2. – P. 42.
4. Viral pathogens of acute gastroenteritis in Egyptian children: role of the parechovirus / M.E.-S. Mashaly [et al.] // BMC Infect Dis. – 2022. – Vol. 22, № 1. – P. 584.
5. Epidemiology of Classic and Novel Human Astrovirus: Gastroenteritis and Beyond / D.-L. Vu [et al.] // Viruses. – 2017. – Vol. 9, № 2. – P. 33. doi:10.3390/v9020033
6. Razizadeh, M.H. Global molecular prevalence and genotype distribution of Sapovirus in children with gastrointestinal complications: A systematic review and meta-analysis / M.H. Razizadeh, A. Khataami, M. Zarei // Rev Med Virol. – 2022. – Vol. 32, № 3. doi: 10.1002/rmv.2302
7. Human bocavirus genotypes 1, 2, and 3 circulating in pediatric patients with acute gastroenteritis in Chiang Mai, Thailand, 2012-2018 / N. Nantachit [et al.] // Journal of Infection and Public Health. – 2021. – Vol. 14, № 2. – P. 179-186.
8. Rivadulla, E. Epidemiology of Aichi virus in fecal samples from outpatients with acute gastroenteritis in North-western Spain / E. Rivadulla, M.F. Varela, J.L. Romalde // Journal of Clinical Virology. – 2019. – Vol. 118 – P. 14-19.
9. Taghinejad, M. High Frequency of Aichivirus in Children With Acute Gastroenteritis in Iran / M. Taghinejad, M. Ghaderi, S.D. Mousavi-Nasab // Pediatric Infectious Disease Journal. – 2020. – Vol. 39, № 7. – P. 576-579.
10. Cloning of Human Picobirnavirus Genomic Segments and Development of an RT-PCR Detection Assay / B.I. Rosen [et al.] // Virology. – 2000. – Vol. 277, № 2. – P. 316-329.
11. Kashnikov, A.Yu. On the nature of picobirnaviruses / A.Yu. Kashnikov, N.V. Epifanova, N.A. Novikova // Vestn. VOGiS. – 2023. – Vol. 27, № 3. – P. 264-275.
12. Wang, D. The enigma of picobirnaviruses: viruses of animals, fungi, or bacteria? / D. Wang // Current Opinion in Virology. – 2022. – Vol. 54 – P. 101232.
13. Basic local alignment search tool / S. Altschul [et al.] // Journal of Molecular Biology – 1990. – 215(3) – P. 403-410
14. Development of a Reverse Transcription-Quantitative PCR System for Detection and Genotyping of Aichi Viruses in Clinical and Environmental Samples / M. Kitajima [et al.] // Appl Environ Microbiol. – 2013. – Vol. 79, № 13. – P. 3952-3958.
15. The development of a multiplex real-time RT-PCR for the detection of adenovirus, astrovirus, rotavirus and sapovirus from stool samples. / S. Bennett, R.N. Gunson // J. Virol. Methods. – 2017 – Vol. 242 – P. 30-34
16. Real-time reverse transcription PCR detection of norovirus, sapovirus and astrovirus as causative agents of acute viral gastroenteritis. / C. Logan, J.J. O'Leary, N. O'Sullivan // J. Virol. Methods. – 2007 – Vol. 146(1-2) – P. 36-44.

N.V. Paklonskaya, Yu.A. Shilova, T.V. Amvrosieva

MULTIPLEX POLYMERASE CHAIN REACTION METHOD FOR THE DIAGNOSIS OF UNSPECIFIED VIRAL ACUTE GASTROENTERITIS

Acute gastroenteritis (AG) can be caused by a wide range of viral pathogens. Detection of dominant pathogens (noro-, rota-, adeno-, enteroviruses) makes it possible to establish the etiology of 40-60% of AG cases. To increase the proportion of their etiological interpretation, it is advisable to conduct research on minor intestinal viruses. This article presents the method of multiplex polymerase chain reaction for the diagnosis of unspecified viral intestinal infection. It allows detecting the genetic material of astro-, sapo-, parecho-, boka-, picobirna- and aichi viruses in biological material (faeces). The approbation of the method made it possible to detect the presence of these pathogens in 4,89% of patients with AG, in whose biological material were no dominant intestinal viruses.

Key words: acute gastroenteritis, polymerase chain reaction, method

Поступила 30.06.23