

**МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ
БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
БИОЛОГИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ
Кафедра микробиологии**

КОЗИК
Анна Владимировна

**ХЛАМИДИЯПОДОБНЫЕ МИКРООРГАНИЗМЫ И ИХ ВЫЯВЛЕНИЕ
МЕТОДОМ ПОЛИМЕРАЗНОЙ ЦЕПНОЙ РЕАКЦИИ**

Аннотация к дипломной работе

Научный руководитель:
кандидат биологических наук, доцент
Рубаник Л. В.

Минск, 2022

АННОТАЦИЯ

Дипломная работа 58 с., 14 рис., 8 табл., 42 источника.

ХЛАМИДИЯПОДОБНЫЕ МИКРООРГАНИЗМЫ, ПЦР, *WADDLIA CHONDROPHILA*, *SIMKANIA NEGEVENSIS*, *PARACHLAMYDIA ACANTHAMOEBAE*, 16S рРНК, ПОРЯДОК *CHLAMYDIALES*.

Объекты исследования: образцы синовиальной жидкости коленного сустава, мазки-соскобы из урогенитального тракта женщин и аутопсийный материал легких и бронхов.

Цель: апробировать метод полимеразной цепной реакции для индикации хламидияподобных микроорганизмов и расшифровать этиологию пневмоний путем постановки полимеразной цепной реакции.

Методы исследования: молекулярно-генетические методы (выделение ДНК, полимеразная цепная реакция, электрофорез).

В результате проведенной работы с использованием различного клинического материала (образцов синовиальной жидкости, мазков-соскобов урогенитального тракта) апробированы праймеры, обеспечивающие амплификацию фрагмента гена 16S рРНК, общего для всех представителей порядка *Chlamydiales* – хламидий и хламидияподобных микроорганизмов.

Определен оптимальный температурный режим постановки ПЦР и установлен состав реакционной смеси. Показано отсутствие неспецифических реакций при тестировании образцов ДНК различных вирусов и бактерий и формирование целевых ампликонов, соответствующих длине 207-215 п.н., только при использовании в реакции ДНК хламидий разных видов (*Chlamydia trachomatis*, *Chlamydiae pneumoniae*) и хламидияподобного микроорганизма *Waddlia chondrophila*, входящего в семейство *Chlamydiaceae*.

Проанализирована половозрастная структура и расшифрована этиология 385 случаев пневмоний путем постановки ПЦР в отношении представителей порядка *Chlamydiales* и обнаружения вируса SARS-CoV-2.

Полученные в ходе работы данные свидетельствуют об успешном применении молекулярно-биологического подхода к одновременной индикации как хламидий, так и хламидияподобных микроорганизмов. Это может служить в дальнейшем важным инструментом для выявления всех представителей порядка *Chlamydiales*, изучения их распространенности в Республике Беларусь и расширения представления о роли хламидияподобных микроорганизмов в патологии человека.

**MINISTRY OF EDUCATION REPUBLIC OF BELARUS
BELARUSIAN STATE UNIVERSITY
BIOLOGICAL FACULTY
Microbiology department**

**A.V.
KOZIK**

**THE CHLAMYDIA-LIKE ORGANISMS AND THEIR DETECTION BY
POLYMERASE CHAIN REACTION**

Annotation to diploma work

Scientific supervisor:
Candidate of Biological Sciences,
Associate Professor Rubanik L. V.

Minsk, 2022

ANNOTATION

Thesis 58 p., 14 fig., 8 tables, 42 sources.

CHLAMYDIA-LIKE MICROORGANISMS, PCR, *WADDLIA CHONDROPHILA*, *SIMKANIA NEGEVENSIS*, *PARACHLAMYDIA ACANTHAMOEBAE*, 16S rRNA, ORDER *CHLAMYDIALES*.

Objects of research: samples of synovial fluid of the knee joint, scraping smears from the urogenital tract of women and autopsy material of the lungs and bronchi.

Objective: to test the polymerase chain reaction method for the indication of *Chlamydia*-like organisms and to decipher the etiology of pneumonia by staging a polymerase chain reaction.

Research methods: molecular genetic methods (DNA isolation, polymerase chain reaction, electrophoresis).

As a result of the work carried out using various clinical materials (samples of synovial fluid, scrapings of the urogenital tract), primers were tested that provide amplification of a fragment of the 16S rRNA gene, common to all representatives of the *Chlamydiales* order – chlamydia and *Chlamydia*-like microorganisms.

The optimal temperature regime of PCR setting was determined and the composition of the reaction mixture was determined. The absence of nonspecific reactions was shown when testing DNA samples of various viruses and bacteria and the formation of target amplicons corresponding to a length of 207-215 bp, only when using *Chlamydia* of different species (*Chlamydia trachomatis*, *Chlamydiae pneumoniae*) and the *Chlamydia*-like organism *Waddlia chondrophila*, part of the *Chlamydiaceae* family, in the DNA reaction.

The sex-and-age structure was analyzed and the etiology of 385 cases of pneumonia was deciphered by PCR against representatives of the order *Chlamydiales* and the detection of the SARS-CoV-2 virus.

The data obtained in the course of the work indicate the successful application of a molecular biological approach to the simultaneous indication of both *Chlamydia* and *Chlamydia*-like organisms. This can serve in the future as an important tool for identifying all representatives of the order *Chlamydiales*, studying their prevalence in the Republic of Belarus and expanding the understanding of the role of *Chlamydia*-like organisms in human pathology.

**МІНІСТЭРСТВА АДУКАЦЫІ РЭСПУБЛІКІ БЕЛАРУСЬ
БЕЛАРУСКІ ДЗЯРЖАЎНЫ ЎНІВЕРСІТЭТ
БІЯЛАГІЧНЫ ФАКУЛЬТЭТ
Кафедра мікрабіялогіі**

КОЗІК
Ганна Уладзіміраўна

**ХЛАМІДЫПАДОБНЫЯ МІКРААРГАНІЗМЫ І ІХ ВЫЯЎЛЕННЕ
МЕТАДАМ ПАЛІМЕРАЗНОЙ ЛАНЦУЖНОЙ РЭАКЦЫІ**

Анатацыя да дыпломнай работы

Навуковы кіраўнік:
кандыдат біялагічных навук, дацэнт
Л. У. Рубанік

Мінск, 2022

АНАТАЦЫЯ

Дыпломная работа 58 с., 14 мал., 8 табл., 42 крыніцы.

Хламідыяпадобныя мікраарганізмы, ПЛР, *WADDLIA CHONDROPHILA*, *SIMKANIA NEGEVENSIS*, *PARACHLAMYDIA ACANTHAMOEBAE*, 16S рРНК, ПАРАДАК *CHLAMYDIALES*.

Аб'екты даследавання: узоры сінавіальнай вадкасці каленнага сустава, мазкі-саскобы з урагенітальнага тракта жанчын і аўтапсійны матэрыял лёгкіх і бронх.

Мэта: апрабаваць метады палімеразнай ланцужной рэакцыі для індывідуальнай ідэнтыфікацыі хламідыяпадобных мікраарганізмаў і расшыфраваць этыялогію пнеўманій шляхам пастаноўкі палімеразнай ланцужной рэакцыі.

Метады даследавання: малекулярна-генетычныя метады (вылучэнне ДНК, палімеразную ланцуговая рэакцыя, электрофарэз).

У выніку праведзенай працы з выкарыстаннем рознага клінічнага матэрыялу (узораў сінавіальнай вадкасці, мазкоў-саскобаў урогенітальнага тракта) апрабаваны праймеры, якія забяспечваюць ампліфікацыю фрагмента гена 16S рРНК, агульнага для ўсіх прадстаўнікоў парадку *Chlamydiales* – хламідый і хламідыяпадобных мікраарганізмаў.

Вызначаны аптымальны тэмпературны рэжым пастаноўкі ПЦР і ўсталяваны склад рэакцыйнай сумесі. Паказана адсутнасць неспецыфічных рэакцый пры тэставанні ўзораў ДНК розных вірусаў і бактэрый і фарміраванне мэтавых ампліконаў, якія адпавядаюць даўжыні 207-215 п.н., толькі пры выкарыстанні ў рэакцыі ДНК хламідый розных відаў (*Chlamydia trachomatis*, *Chlamydiae pneumoniae*) і хламідыяпадобнага мікраарганізма *Waddlia chondrophila*, залучанага ў сям'ю *Chlamydiaceae*.

Прааналізавана полаўзроставая структура і расшыфравана этыялогія 385 выпадкаў пнеўманій шляхам пастаноўкі ПЛР у дачыненні да прадстаўнікоў парадку *Chlamydiales* і выяўлення віруса SARS-CoV-2.

Атрыманыя ў ходзе работы дадзеныя сведчаць аб паспяховым прымяненні малекулярна-біялагічнага падыходу да адначасовай ідэнтыфікацыі як хламідый, так і хламідыяпадобных мікраарганізмаў. Гэта можа служыць у далейшым важным інструментам для выяўлення ўсіх прадстаўнікоў парадку *Chlamydiales*, вывучэння іх распаўсюджанасці ў Рэспубліцы Беларусь і пашырэння ўяўлення аб ролі хламідыяпадобных мікраарганізмаў у паталогіі чалавека.