

Таргетная NGS-панель для диагностики инфекций дыхательных путей человека**Корюков Максим Александрович**

Студент (магистр)

Новосибирский национальный исследовательский государственный университет,

Новосибирск, Россия

E-mail: mkoryukov@gmail.com

Острые респираторные инфекции (ОРИ) являются одной из лидирующих причин заболеваемости и смертности во всем мире [1]. Несмотря на преимущественно умеренное течение болезни, нередки осложнения, особенно среди пациентов с иммунодефицитом или хроническими заболеваниями органов дыхания, кровообращения и центральной нервной системы. Диагностика ОРИ часто основана только на клинической картине, вследствие чего при лечении могут использоваться малоэффективные и потенциально опасные препараты. На данный момент для диагностики респираторных инфекций активно используются такие методы, как иммунохроматографический и иммуноферментный анализы, однако золотым стандартом диагностики большинства респираторных инфекций является полимеразная цепная реакция (ПЦР). При этом ключевым недостатком общим для этих методов является ограниченность в применении при работе с большим количеством образцов и целевых патогенов. Одним из наиболее актуальных методов при работе с высоко мультимплексированными системами является секвенирование нового поколения (NGS). Использование различных индексующих последовательностей представляет возможность одновременного анализа сотен образцов на наличие различных патогенов за один запуск секвенатора. Поэтому целью данной работы стала разработка метода детекции инфекционных агентов, встречающихся в клинических образцах пациентов с симптомами ОРИ. Для этого из базы данных NCBI Nucleotide были извлечены последовательности нуклеиновых кислот 12 видов бактерий и 39 групп вирусов, на которые было сконструировано 108 пар праймеров. Эффективность работы праймеров была оценена в моноплексных ПЦР с последующим разделением продуктов амплификации с помощью электрофореза в полиакриламидном геле. По результатам 40 запусков секвенирования на приборе Illumina MiniSeq была предложена методика приготовления библиотеки, а также анализа данных при помощи программы Qiime2. В сотрудничестве с ДГКБ №9 им. Г. Н. Сперанского нами было протестировано 90 образцов кДНК, которые были предварительно проанализированы на наличие респираторных вирусов при помощи ПЦР тест-системы - ОРВИ-скрин (Хеликс). При применении NGS-панели в 82% образцов был обнаружен хотя бы один из целевых патогенов, тогда как при использовании ОРВИ-скрин доля положительных образцов достигла лишь 23%. По результатам NGS среди образцов наблюдается высокая частота случаев коинфекции, преимущественно *H. influenzae* и *S. pneumoniae* (12%), а также были идентифицированы различные варианты микст-инфекций, в состав которых входили риновирусы и метапневмовирусы в комбинации с бактериями. Таким образом сконструированная NGS-панель позволяет детектировать большую часть патогенов респираторной системы человека и может эффективно использоваться при необходимости назначения точного лечения.

Источники и литература

- 1) Jin X. et al. Global burden of upper respiratory infections in 204 countries and territories, from 1990 to 2019 // *EClinicalMedicine*. Lancet Publishing Group, 2021. Vol. 37. P. 100986.