

ВАЖНОСТЬ ЛАБОРАТОРНОГО АНАЛИЗА В ПЦР

*Бердиярова Шохида Шукуруллаевна, Нажмиддинова Нигора
Камолиддиновна, Шухратзода Озода*

*Бердиярова Шохида Шукуруллаевна - ассистент кафедре клинической
лабораторной диагностики*

*Нажмиддинова Нигора Камолиддиновна - ассистент кафедре
клинической лабораторной диагностики*

*Шухратзода Озода - курсант кафедре клинической лабораторной
диагностики*

*Самаркандский государственный медицинский университет
Республика Узбекистон, г. Самарканд*

Аннотация: Основным принципом ПЦР является использование фермента, называемого ДНК-полимеразой, для создания копии цепочки ДНК. Обычно ДНК состоит из двух цепей, но фермент может работать только с одной цепью. Поэтому сначала необходимо разделить нити ДНК. Это делается путем применения тепла. Способность метода, называемого полимеразной цепной реакцией (ПЦР), многократно усиливать любой известный фрагмент ДНК из сложной смеси за короткое время произвела революцию во всех областях наук о жизни, сделав его одним из наиболее широко используемых молекулярных методов на сегодняшний день. Копируются обе отдельные нити исходной двухцепочечной молекулы ДНК. Таким образом, в результате получаются две двухцепочечные молекулы, каждая из которых идентична исходному фрагменту двухцепочечной ДНК.

Ключевые слова: ПЦР, дифференциальная диагностика, патогенез, ДНК, РНК, лаборатория.

THE IMPORTANCE OF LABORATORY ANALYSIS IN PCR

*Berdiyarova Shokhida Shukurullaevna, Najmiddinova Nigora
Kamoliddinovna, Shuhratzoda Ozoda*

*Berdiyarova Shokhida Shukurullaevna - assistant at the Department of
Clinical Laboratory Diagnostics*

*Najmiddinova Nigora Kamoliddinovna - Assistant at the Department of
Clinical Laboratory Diagnostics*

*Shuhratzoda Ozoda - cadet at the Department of Clinical Laboratory
Diagnostics*

Samarkand State Medical University
Republic of Uzbekistan, Samarkand

Abstract: The core principle of PCR is the use of an enzyme called DNA polymerase to make a copy of a DNA strand. Normally DNA exists as a double strand, but the enzyme can only work on a single strand. Therefore it is first necessary to separate the strands of DNA. This is done by applying heat. The capacity of the technique called the polymerase chain reaction (PCR) to amplify many million-fold any known DNA fragment from a complex mixture in a short time has revolutionized all areas of the life sciences, making it one of the most widely used molecular techniques in use today. Both single strands of the original double-stranded DNA molecule are copied. Therefore the result is two double stranded molecules each identical to the original double-stranded DNA fragment.

Key words: PCR, differential diagnosis, pathogenesis, DNA, RNA, laboratory.

Проще говоря, ПЦР - это лабораторный метод, используемый для создания огромного количества копий фрагмента ДНК. Другими словами, это способ амплификации ДНК или увеличения количества определенного фрагмента ДНК. Основным принципом ПЦР является использование фермента, называемого ДНК-полимеразой, для создания копии цепочки ДНК. Обычно ДНК состоит из двух цепей, но фермент может работать только с одной цепью. Поэтому сначала необходимо разделить нити ДНК. Это делается путем нагревания. Нагревание ДНК превращает двухцепочечную ДНК в одноцепочечную. На первом этапе ПЦР двухцепочечная ДНК преобразуется в одноцепочечную, этот этап известен как денатурация. Фермент может воздействовать на одноцепочечную ДНК для создания копии. Однако для начала ферменту требуется небольшой участок двухцепочечной ДНК. Поэтому необходимо добавить короткий фрагмент одноцепочечной ДНК, называемый праймером, который специфически связывается с определенным участком одноцепочечной молекулы. Это связывание, или отжиг, достигается путем повторного охлаждения смеси для ПЦР. Этот этап процесса ПЦР называется отжигом. Введение: Гепатиты В и С являются серьезными вирусными заболеваниями, которые поражают миллионы людей во всем мире, приводя к воспалению печени и нарушению ее функции. Своевременное выявление и подтверждение этих вирусных инфекций имеют решающее значение, поскольку ранняя диагностика значительно повышает шансы на успешное лечение. Технологии полимеразной цепной реакции (ПЦР) представляют собой крупный прорыв в этой области, поскольку позволяют выявлять вирусные инфекции на молекулярном уровне. В этой статье будет подробно рассмотрен процесс подтверждения заражения гепатитами В и С с

помощью технологий ПЦР, достижения и существующие ограничения. Теоретические основы технологии ПЦР: Технология ПЦР - это метод молекулярной биологии, используемый для амплификации нуклеиновых кислот, позволяющий добиться значительной репликации вирусной ДНК или РНК, выделенных из крови пациента или других биологических образцов. В случае заражения гепатитами В и С эта технология используется для выявления генетического материала вирусов и подтверждения их присутствия. Процесс ПЦР состоит из трех основных этапов:

1. Денатурация: На этом этапе нити ДНК или РНК в образце разделяются путем нагревания.
2. Отжиг: температура снижается, и праймеры для ПЦР связываются с определенными участками ДНК.
3. Удлинение: фермент ДНК-полимераза удлиняет цепочку, образуя новые молекулы ДНК.

Количество ДНК, амплифицированной с помощью ПЦР, значительно увеличивается, что позволяет обнаружить вирус. В случае гепатитов В и С ПЦР позволяет выявить очень малое количество вируса, что делает его более эффективным по сравнению с другими методами диагностики.

Гепатиты В и С: Эпидемиология и медицинское значение. Гепатиты В и С являются двумя основными вирусными инфекциями, которые могут привести к заболеваниям печени, циррозу и раку печени. По данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), по оценкам, 296 миллионов человек во всем мире инфицированы гепатитом В, а 58 миллионов человек - гепатитом С. Эти заболевания часто остаются незамеченными пациентами, поскольку симптомы могут не проявляться до тех пор, пока не наступит серьезное поражение печени. Таким образом, ранняя диагностика гепатитов В и С имеет решающее значение для предотвращения серьезных осложнений. Достижения ПЦР в диагностике гепатитов В и С.

1. Высокая чувствительность и специфичность: Технология ПЦР обеспечивает высокую чувствительность, позволяя выявлять даже минимальные количества вируса. Это имеет решающее значение для выявления гепатитов В и С на ранних стадиях. Кроме того, поскольку ПЦР основана на ДНК или РНК вирусов, она обладает высоким уровнем специфичности при выявлении различных штаммов.

2. Определение вирусной нагрузки: ПЦР не только выявляет присутствие вируса, но и количественно определяет его концентрацию (вирусную нагрузку). Вирусная нагрузка играет важную роль в оценке реакции иммунной системы и эффективности лечения. В случае гепатита С снижение вирусной нагрузки свидетельствует об эффективном лечении интерфероном и рибавирином.

3. Точное подтверждение гепатита В и С: Технология ПЦР позволяет точно подтвердить генетический материал вирусов гепатита В и С. ДНК вируса гепатита В и РНК вируса гепатита С могут быть идентифицированы с помощью ПЦР. Этот метод значительно более точен, чем традиционные серологические методы, которые выявляют только антитела и могут давать замедленную реакцию.

4. Снижение рисков при хирургическом вмешательстве и трансплантации органов: Раннее выявление гепатитов В и С в группах высокого риска, таких как реципиенты трансплантированных органов или пациенты, находящиеся на диализе, позволяет проводить безопасное лечение до хирургических вмешательств. На основе вирусной нагрузки, выявленной с помощью ПЦР, можно оптимизировать противовирусное лечение пациентов, перенесших трансплантацию.

Ограничения и недостатки технологии ПЦР

1. Высокая стоимость и требования к инфраструктуре: Технология ПЦР является дорогостоящим и технологически сложным методом. Для ее проведения требуются специализированные лаборатории, дорогостоящие реагенты и квалифицированный персонал. Во многих развивающихся странах недостаточно финансовых ресурсов для широкого внедрения ПЦР-тестов, что ограничивает диагностические возможности.

2. Мутации и варианты вирусов: ПЦР-тесты основаны на определенных генетических последовательностях. Генетические мутации в вирусах могут приводить к появлению новых вариантов, что потенциально снижает эффективность теста. Например, гепатит С имеет различные генотипы, и некоторые из них могут быть неточно обнаружены с помощью ПЦР.

3. Качество образцов и ложноотрицательные результаты: Качество сбора и сохранности образцов имеет решающее значение для проведения ПЦР-тестов. Плохо сохранившиеся образцы или неправильное обращение с ними могут снизить чувствительность теста и привести к ложноотрицательным результатам. Это особенно важно для пациентов с низкой вирусной нагрузкой, у которых небольшое количество вирусной ДНК или РНК может остаться незамеченным.

4. Техническая сложность и эксплуатационные трудности: Технология ПЦР сложна и требует тщательного внимания к техническим деталям. Высокий риск заражения в лабораториях, что может привести к неточным результатам анализа. Сложность процесса ПЦР означает, что им могут заниматься только высококвалифицированные специалисты.

Сравнение с другими методами диагностики гепатита В и С. Другие методы диагностики, такие как ИФА (иммуноферментный анализ) и экспресс-тесты, также доступны для выявления гепатита В и С. Эти методы часто

являются серологическими, выявляющими антитела в крови пациента. Однако технология ПЦР позволяет выявлять вирус на молекулярном уровне и напрямую подтверждать его наличие. Серологические методы могут задержать диагностику, поскольку антитела вырабатываются только после того, как иммунная система реагирует на вирусную инфекцию.

Последние достижения и будущий потенциал технологии ПЦР: За последние годы в технологии ПЦР было достигнуто несколько достижений. Например, ПЦР в реальном времени (КПЦР) позволила повысить эффективность выявления и мониторинга вирусной нагрузки. Этот метод играет решающую роль в лечении и мониторинге здоровья пациентов. Кроме того, предпринимаются усилия по созданию более быстрых и чувствительных тестов для выявления вирусов. Еще одним перспективным достижением является разработка мультиплексной ПЦР, которая позволяет выявлять несколько вирусов или патогенов одновременно. Этот метод может быть весьма полезен при диагностике сопутствующих инфекций, таких как гепатиты В и С, протекающие одновременно, или других заболеваний, связанных с печенью.

Заключение: Использование технологии ПЦР для подтверждения гепатита В и С представляет собой значительный шаг вперед в диагностике и лечении этих инфекций. Высокая чувствительность, специфичность и способность количественно определять вирусную нагрузку делают ее ценным инструментом для ранней диагностики и мониторинга эффективности лечения. Однако высокая стоимость, требования к инфраструктуре и проблемы, связанные с вирусными мутациями и качеством образцов, создают ограничения. Несмотря на эти недостатки, продолжающийся прогресс в технологии ПЦР обладает потенциалом для дальнейшего повышения точности и доступности диагностики гепатитов В и С, что в конечном итоге приведет к улучшению результатов лечения пациентов. В ближайшие годы, по мере снижения стоимости ПЦР-тестов и улучшения доступности, мы можем ожидать более широкого внедрения этой технологии как в развитых, так и в развивающихся странах, что потенциально приведет к значительному снижению числа осложнений и смертельных исходов, связанных с гепатитом.

Затем фермент ДНК-полимераза приступает к работе и копирует одноцепочечную молекулу, начиная со связанного участка праймера. Этот заключительный этап, удлинение, называется так потому, что ДНК удлиняет ДНК из отожденного праймера и создает комплементарную копию одноцепочечной молекулы. На практике используются два разных праймера. Прямой праймер, который связывается с одной цепью, и обратный праймер, который связывается с противоположной цепью. Выбор праймеров важен, поскольку каждый праймер связывает ДНК в определенном месте. Единственная

ДНК, которая копируется, - это участок между местом прямого и обратного связывания праймера. Три этапа ПЦР повторяются в течение примерно 30 или 40 циклов. Каждый цикл удваивает количество двухцепочечных молекул ДНК. Обычно ПЦР проводят на оборудовании, называемом термоциклером для ПЦР или ПЦР-машиной. Термоциклер для ПЦР быстро нагревает и охлаждает реакционную смесь для ПЦР, что позволяет проводить денатурацию, отжиг и удлинение. Проблемы с ПЦР На практике методика ПЦР сложнее, чем описано выше, и не всегда просто достичь желаемого результата. Например, праймеры могут неспецифически связываться с несколькими участками цепи ДНК. В результате получается смесь амплифицированных продуктов. Кроме того, различные факторы, такие как примеси в смеси ДНК, могут вообще предотвратить протекание реакции. Более подробную информацию смотрите в нашем разделе, посвященном устранению неполадок при проведении ПЦР. Обычная ПЦР на основе геля или традиционная ПЦР, описанная выше, имеет ряд недостатков: она трудоемка, ее нелегко автоматизировать или адаптировать для высокопроизводительных применений, а количественное определение нуклеиновых кислот сопряжено с трудностями. Внедрение новых реагентов, химических средств и инструментальных платформ модифицировало устаревшую технологию ПЦР, создав новую технологию количественной ПЦР на основе флуоресценции в реальном времени (qPCR, также известную как ПЦР в реальном времени или qRT-ПЦР), которая решает эти проблемы. Использование ПЦР в реальном времени позволяет отслеживать ход ПЦР-реакции в реальном времени с помощью флуоресцентных репортерных молекул, входящих в состав ПЦР-смеси. Дополнительную информацию смотрите в нашем разделе, посвященном ПЦР в реальном времени

Выводы. ПЦР - это современный метод диагностики, который позволяет выявить любой вирус или бактерию в организме, даже если их количество очень мало. ПЦР, которую мы используем уже много лет, используется в качестве метода диагностики в тех случаях, когда количество вирусов, таких как гепатит В, гепатит С, очень важно.

Литература

1. Узденов М.А., Яненко Э.К., Гербекова И.Д. Кон-сервативная противорецидивная терапия больных моче-каменной болезнью // Медицинский вестник Башкортостана. 2011. Т. 6. № 3. С. 95—99.
2. Шарафутдинов М.А. Динамика и прогноз заболеваемости взрослого населения Республики Башкортостан болезнями мочеполовой системы // Медицинский вестник Башкортостана. 2010. № 6. С. 11—15
3. Спиридонова Е.С. Медико-социальная характеристика больных с урологической патологией // Се-стринское дело и высшее сестринское

- образование: ма-териалы научно-практической конференции. Уфа: Вагант, 2010. Вып. 3. С. 60—62.
4. Kudratova Z. E. Isomadinova L. K. Sirojeddinova S. F. Tursunova M. E. Current modern etiology of anemia. novateur publications international journal of innovations in engineering research and technology. № 10. 2023, P. 1-4.
 5. Даминов Ф. А. и др. Синдром кишечной недостаточности и его коррекция у тяжелообожженных // Журнал Неотложная хирургия им. ИИ Джанелидзе. – 2021-№. S1. – С. 20-21.
 6. Ибрагимова Н. и др. РАССТРОЙСТВА ИММУННОЙ СИСТЕМЫ. ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ // Центральноазиатский журнал академических исследований. – 2024. – Т. 2. – №. 1. – С. 4-8.
 7. Feruz O'ktam o'gli T., Mengdobilovich M. N. ANALYSIS OF GLYCEMIA AND GLUCOSURIA IN PATIENTS WITH DIABETES AND COVID-19 // Open Access Repository. – 2023. – Т. 4. – №. 2. – С. 177-181.
 8. Dushanova G. A., Nabiyeva F. S., Rahimova G. O. FEATURES OF THE DISTRIBUTION OF HLA-ANTIGENS AMONG PEOPLE OF THE UZBEK NATIONALITY IN THE SAMARKAND REGION // Open Access Repository. – 2023. – Т. 10. – №. 10. – С. 14-25.
 9. Berdiyeva Sh.Sh., Ahadova M.M., Ochilov S.A. [COMPLICATIONS OF TREATMENT OF ACUTE HEMATOGENOUS OSTEOMYELITIS. LITERATURE REVIEW](#), Galaxy International Interdisciplinary Research Journal 293-298
 10. Бердиярова Ш.Ш., Юсупова Н.А., Ширинов Х.И. [Клинико-лабораторная диагностика внебольничных пневмоний у детей](#), Вестник науки и образования, 80-83
 11. Kudratova Zebo Erkinovna, Karimova Linara Alixanovna Age-related features of the respiratory system // ReFocus. 2023. №1. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/age-related-features-of-the-respiratory-system>.
 12. Sabirovna I. N., Kizi U. S. I. FEATURES OF THE COURSE OF POSTPONED PREGNANCY // Research Focus. – 2023. – Т. 2. – №. 1. – С. 236-240.
 13. Isomadinova L.K. Qudratova Z.E. Shamsiddinova D.K. Samarqand viloyatida urotillaz kasalligi klinik-kechishining o'ziga xos xususiyatlari. Central asian journal of education and innovation №10. 2023, P. 51-53
 14. Ширинов Х. И., Ибрагимова Н. С., Ибрагимов Б. Ф. НЕБЛАГОПРИЯТНЫЕ ИСХОДЫ СИНДРОМА ПОЛИКИСТОЗНЫХ ЯИЧНИКОВ У МОЛОДЫХ ЖЕНЩИН // Journal of new century innovations. – 2023. – Т. 26. – №. 3. – С. 185-189.
 15. Feruz O'ktam o'gli T., Mengdobilovich M. N. ANALYSIS OF GLYCEMIA AND GLUCOSURIA IN PATIENTS WITH DIABETES AND COVID-19

//Open Access Repository. – 2023. – Т. 4. – №. 2. – С. 177-181.

16. Маматова М.Н., Шайкулов Х.Ш. и др. Применение реакции непрямо́й гемагглютинации для определения антител к стафилококковому токсину // Журнал «Экономика и социум». 2024, №7 (122).

