

естественные родовые пути. Необходимо диспансерное наблюдение женщин после кесарева сечения, что позволяет снизить частоту осложнений и гинекологических заболеваний, улучшает восстановление и функционирование репродуктивной системы женщины [1].

Таблица 2

**Осложнения после кесарева сечения**

Осложнение	Количество
Эндометриит	5
Гематометра	13
Расхождение швов на ПБС	3
Гематома швов на матке	1
Гематома на передней брюшной стенке	5
Гематома в малом тазу после ампутации	1
Инфильтрат передней брюшной стенки, серома подкожной клетчатки	1
Обострение хронического пиелонефрита	1
<b>Итого</b>	<b>30</b>

Исходя из нашего анализа, можно сделать вывод, что с каждым годом процент кесарева сечения будет увеличиваться, следовательно, будут расти осложнения в послеоперационном периоде.

Известно, что увеличение частоты кесарева сечения выше 10 – 15 % существенно не влияет на перинатальные показатели, однако, резко увеличивает материнскую заболеваемость и смертность [4, 5].

Таким образом, на современном этапе развития акушерства имеет большое значение снижение количества операций кесарева сечения путем самостоятельного родоразрешения женщин с рубцом на матке. Необходимо в каждом конкретном случае пересматривать показания на операцию кесарева сечения.

**ЛИТЕРАТУРА**

1. Густоварова Т.А. Беременность и роды у женщин с рубцом на матке: клинко-морфологические и диагностические аспекты: Автореф. дисс. ... докт. мед. наук: 14.00.01 / Т.А. Густоварова. – М., 2008. – 17 с.
2. Комиссарова Л.М. Оптимизация кесарева сечения / Л.М. Комиссарова, Е.А. Чернуха, Т.К. Пучка // Акушерство и гинекология. – 2000. – № 5. – С. 17–22.
3. Краснопольский В.И. Кесарево сечение / Под ред. член-корр. РАМН В.И. Краснопольского. – М.: ТОО «Техлит», Медицина, 1997. – 285 с.
4. Цхай В.Б. Перинатальное акушерство: Учебное пособие / В.Б. Цхай. – РнД.: Феникс, Красноярск: Издательские проекты, 2007. – С. 183–198.
5. Чернуха Е.А. Родовой блок / Е.А. Чернуха. – М.: Триада X, 2005. – 712 с.

**М.В. Бадлеева**

**ГЕНОДИАГНОСТИКА ТУБЕРКУЛЕЗА**

*Бурятский государственный университет (Улан-Удэ)*

Традиционные микробиологические методы выявления возбудителя туберкулеза имеют относительно низкую чувствительность и сопряжены с рядом трудностей: процесс деления *Mycobacterium tuberculosis* более длителен – составляет более 24 часов по сравнению с другими бактериями (максимум от 15 минут до 3 часов). Между тем, для того, чтобы достоверно подтвердить туберкулезную природу заболевания, необходимо выделить чистую культуру возбудителя и определить ее таксономическую принадлежность к этому виду микроорганизмов.

В связи с этим верификацию диагноза при туберкулезе провести труднее, чем при любой другой бактериальной инфекции. Бактериоскопическое исследование клинического образца на кислотоустойчивые бактерии – наиболее быстрый способ получить доказательство туберкулезной инфекции. Однако не у всех инфицированных можно обнаружить микобактерии туберкулеза (МБТ) в мазке, кроме того, по мазку нельзя отличить *M. tuberculosis* от условно-патогенных кислотоустойчивых микобактерий. Посевы на селективные питательные среды более чувствительны, но требуют длительного времени из-за низкой скорости роста микобактерий.

Способы быстрого выявления микобактерий комплекса *M. tuberculosis* чрезвычайно важны для раннего установления диагноза, выбора эффективного лечения и предупреждения распространения заболевания. Особую значимость проблема ускоренной диагностики приобретает в последнее время в силу повсеместного распространения полирезистентных форм возбудителя.

Разработка молекулярных диагностических методов для прямого определения микобактерий в клинических образцах позволила усовершенствовать быструю диагностику туберкулеза.

Генодиагностика — это комплекс методов, позволяющих обнаруживать последовательности нуклеиновой кислоты, специфичные для определенного вида возбудителя инфекционного заболевания

Геном любого биологического объекта, в том числе микобактерий туберкулеза, содержит участки уникальной нуклеотидной последовательности, в которой зашифрована вся информация, определяющая его свойства и особенности биологии микроорганизма.

В настоящее время расшифрован геном *M. tuberculosis* H37Rv. Он имеет длину 4411529 пар нуклеотидов, содержит примерно 4000 генов и имеет ряд повторяющихся последовательностей в нескольких копиях, которые и применяются для выявления МБТ. Наибольшее распространение для выявления микобактерии туберкулеза получили тест-системы, основанные на амплификации прямых повторов IS6110 (число копий от 2 до 12 в разных штаммах) — эти последовательности характерны для микобактерий туберкулезного комплекса. Причем в МБТ их в два раза больше, чем в *Mycobacterium bovis*. Кроме IS6110 в микобактериях обнаружены и другие нуклеотидные последовательности: IS6119 (16 копий), полиморфные тандемные повторы IS1081 (6 копий), PGRS полиморфные богатые последовательности, MIRU — микобактериальные разбросанные повторяющиеся единицы. Эти последовательности в разных штаммах могут находиться в разной степени, или некоторые штаммы вообще не имеют определенной последовательности, например, у микобактерий туберкулеза, циркулирующих на территории Вьетнама, Китая нет последовательности IS6110.

Существуют различные тест-системы для ПЦР-диагностики туберкулеза, которые позволяют обнаружить возбудитель за короткий промежуток времени даже у больных со скудным бактериовыделением или в случаях, когда возбудитель находится в латентной фазе или в замороженных образцах. Все они высокоспецифичны, а их чувствительность, по данным разных литературных источников, составляет 70–96 %.

Наиболее широко распространенным методом является полимеразная цепная реакция (ПЦР), в основе которой лежит амплификация специфического участка ДНК возбудителя. Реакция ПЦР позволяет проводить идентификацию МБТ в диагностическом материале за 5–6 часов и обладает высокой специфичностью и чувствительностью (в диапазоне от 1–10 клеток в образце).

Полимеразная цепная реакция (ПЦР) — быстрый и действенный метод для получения *in vitro* миллионов копий специфического фрагмента ДНК. Принцип метода был предложен и реализован в 1985 году американским ученым Кэри Мюллис и в настоящее время успешно используется при определении возбудителей многих инфекционных заболеваний. Механизм копирования таков, что комплементарное достраивание нитей может начаться не в любой точке последовательности ДНК, а только в определенных стартовых блоках (коротких двунитовых участках). Для создания стартовых блоков в заданных участках ДНК используют затравки, представляющие собой олигонуклеотиды длиной около 20 н.п., называемые праймерами. Праймеры комплементарны последовательностям ДНК на левой и правой границах специфического фрагмента и ориентированы таким образом, что синтез ДНК, осуществляемый ферментом ДНК-полимеразой, протекает только между ними. Каждый цикл амплификации состоит из 3 этапов:

1. Расплетание двойной спирали ДНК. Денатурация ДНК достигается нагреванием до 93–95 °С. Время денатурации обычно составляет 1 мин.

2. Присоединение (отжиг) праймеров происходит комплементарно к соответствующим последовательностям специфического фрагмента. Температура отжига является специфической для каждой пары праймеров и располагается в интервале 50–65 °С. Время этой стадии составляет 1–2 мин.

3. Комплементарное достраивание цепей ДНК (синтез фрагмента). Присоединившиеся праймеры формируют стартовые блоки, с которых начинается синтез ДНК. Комплементарное достраивание нитей ДНК всегда протекает только в направлении от 5'-конца к 3'-концу нити ДНК и происходит в противоположных друг другу направлениях. Образовавшиеся в первом цикле амплификации продукты синтеза служат матрицами для второго цикла амплификации. Температура, при которой происходит синтез ДНК, составляет, как правило, 72 °С. Время протекания синтеза 1–3 мин.

Построение новых нитей ДНК осуществляется в присутствии фермента термостабильной ДНК-полимеразы, называемой Таг-полимеразой. Процесс амплификации заключается в повторении циклов амплификации. В результате 30–35 циклов амплификации синтезируется 108 копий фрагментов, что делает возможным визуальный учет результатов после электрофореза в агарозном или акриламидном гелях.

Основное преимущество ПЦР перед культуральными методами состоит в способности идентифицировать, определять свойства бактерий, которые не удается по тем или иным причинам размножить в лабораторных условиях.

Принципиально новым подходом для решения проблемы быстрого выявления МБТ и определения резистентности к лекарственным препаратам являются биологические микрочипы — уникальное сред-

ство биомедицинской диагностики. В Институте молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН под руководством академика А.Д. Мирзабекова созданы микрочипы для определения резистентных к рифампицину штаммов МБТ. Микрочип представляет собой матрицу, состоящую из ячеек полиакриламидного геля, нанесенных на стеклянную поверхность и содержащих 42 иммобилизованных олигонуклеотида. Результат анализа образца определяется индивидуальным рисунком свечения отдельных ячеек микрочипа, который регистрируется с помощью специальной аппаратуры. В силу миниатюрности и высокой чувствительности биологические микрочипы могут быть использованы, например, для одновременной идентификации возбудителя и определения его лекарственной чувствительности к рифампицину, с определением типа мутации, ответственной за резистентность к противотуберкулезным препаратам. Устойчивость к рифампицину предложено рассматривать как «суррогатный» маркер полирезистентности, так как большое количество штаммов МБТ, устойчивых к рифампицину, устойчивы и к изо니아зиду, в 96 % случаев обусловлена точечными мутациями в гене *gro β*, кодирующем  $\beta$ -субъединицу ДНК-зависимой РНК-полимеразы.

Разработан метод идентификации резистентных к рифампицину штаммов *M. tuberculosis* на биологических микрочипах. Метод гибридизации на ТБ-микрочипе позволяет обнаруживать 30 мутантных вариантов гена *gro β*, обуславливающих устойчивость к рифампицину, а также дикий тип. Метод основан на гибридизации флюоресцентно меченого ПЦР-продукта фрагмента гена *gro β* с олигонуклеотидными зондами, иммобилизованными на микрочипе. Для подготовки образца проводится двухстадийная асимметричная ПЦР с использованием флюоресцентно меченого праймера с целью амплификации фрагмента гена *gro β* и получения флюоресцентно меченой одноцепочечной ДНК. Полученный ПЦР-продукт гибридизуется, после чего гибридизационная картина фиксируется люминесцентным микроскопом. Олигонуклеотиды, комплементарные последовательности «дикого типа» (чувствительные к рифампицину) располагаются в трех горизонтальных рядах на микрочипе, а зонды, соответствующие мутантным аллелям, располагаются над ними в ячейках вплоть до следующего ряда «дикого типа». Таким образом, гибридизационная картина может быть легко интерпретирована визуально.

Таким образом, молекулярно-генетические методы используются, прежде всего, для более быстрого выявления возбудителя и определения лекарственной чувствительности, что позволяет обоснованно верифицировать диагноз туберкулеза и выбирать адекватный лекарственный режим с самого начала лечения.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Грядун Д.А. Разработка методов полимеразной цепной реакции на олигонуклеотидных микрочипах для видовой идентификации микроорганизмов и определения их лекарственной чувствительности: Автореф. дисс. ... канд. мед. наук / Грядун Д.А.; Ин-т мол. биол. им. В.А. Энгельгардта РАН. — М., 2002. — 24 с.
2. Новые технологии определения лекарственной чувствительности *Mycobacterium tuberculosis* / О.И. Скотникова [и др.] // Пробл. туберкулеза. — 2004. — № 5. — С. 40–42.
3. Состав и лекарственная чувствительность микобактериальной популяции у больных с подозрением на туберкулез / М.В. Бадлеева [и др.] // Проблемы туберкулеза. — 2006. — № 5. — С. 36–38.

**А.Д. Базыржапов, В.Г. Стенин, С.Н. Очиров**

### ПОВТОРНЫЕ ОПЕРАЦИИ ПРИ РЕКАНАЛИЗАЦИИ ДЕФЕКТА МЕЖЖЕЛУДОЧКОВОЙ ПЕРЕГОРОДКИ ПОСЛЕ РАДИКАЛЬНОЙ КОРРЕКЦИИ ТЕТРАДЫ ФАЛЛО

*Научно-исследовательский институт патологии кровообращения им. Е.Н. Мешалкина (Новосибирск)  
Республиканская клиническая больница (Улан-Удэ)*

#### АКТУАЛЬНОСТЬ ТЕМЫ

Тетрада Фалло — один из наиболее распространенных цианотических врожденных пороков сердца. Хирургическое лечение тетрады Фалло по-прежнему остается актуальной проблемой. Известно, что результаты радикальной коррекции тетрады Фалло во многом зависят от объема реконструкции путей оттока из правого желудочка и остаточных нарушений кровообращения. К последним относятся резидуальное стенозирование выходного отдела правого желудка, реканализация дефекта межжелудочковой перегородки и недостаточность клапана легочной артерии, влияющие на функциональное состояние правого желудочка. Радикальная коррекция тетрады Фалло не всегда является завершающей стадией хирургического лечения этого порока. В ряде случаев приходится оперировать повторно. Одной из причин является реканализация дефекта межжелудочковой перегородки.

По данным В.Н. Чебана и Д.Б. Дробота (1998), наиболее частой причиной повторных операций является реканализация дефекта межжелудочковой перегородки, связанная с погрешностью подшивания