

предусматривает оценку рубца по 6 критериям. Результат 6 баллов расценивается как отличный, 5 баллов — хороший. Средняя оценка в коллективе — 5,75. Число пациенток с результатом 6 баллов — 30 (75 %), 5 баллов — 10 (25 %), суммарная доля отличных/хороших результатов — 40 (100 %). Согласно ВАШ, определение эффекта оперативного лечения проводится самим пациентом по 100-балльной шкале. Отличными считаются оценки более 65 баллов, хорошими — 50–65 баллов. Число пациенток с результатом 65 и более баллов — 29 (72,5 %), 50–64 балла — 11 (27,5 %). Среди опрошенных 40 женщин к повседневной бытовой работе вернулись в течение первого месяца 39 человек. У одной пациентки функциональная реабилитация продолжалась в течение 2 месяцев в связи с преходящей лимфедемой верхней конечности. Жизнь в семье после оперативного лечения практически у всех пациенток не изменилась. В браке состояли 36 из 40 (90 %). Семейные отношения сохранились у 36 (100 %).

Выводы

1. Заживление послеоперационной раны первичным натяжением наблюдалось у 40 (100 %) пациенток.
2. Осложнение раннего послеоперационного периода в виде преходящей лимфедемы верхней конечности наблюдалось лишь в 1 (2,5 %) случае.
3. Операция позволила добиться приемлемых косметических результатов у 40 (100 %) пациенток.

ЛИТЕРАТУРА

1. Давыдов, М. И. Рак молочной железы / М. И. Давыдов, В. П. Летягин // АБВ-пресс. — 2006. — С. 100–130.
2. Семиглазов, В. Ф. Хирургическое лечение рака молочной железы / В. Ф. Семиглазов // Практическая онкология. — 2001. — Т. 3, № 1. — С. 21–28.
3. Comparative morbidity of axillary lymph node dissection and the sentinel lymph node technique: implications for patients with breast cancer / A. W. Silberman [et al.] // Ann. Surg. — 2004. — Vol. 240. — P. 1–6.
4. Онкопластическая резекция молочной железы скользящим дермоглангулярным лоскутом с Z-образным разрезом / Research Practical Medicine Journal. — 2017. — P. 68–74.
5. Лактионов, К. П. Выбор метода реконструктивных операций при РМЖ / К. П. Лактионов, С. Н. Блохин, В. А. Котов. — М.: РОНЦ им. Н. Н. Блохина, 2004. — С. 143.

УДК 578.8

ВИРУСЫ TTV И SENV: ВЫЯВЛЕНИЕ И РАСПРОСТРАНЕННОСТЬ

**Воропаев Е. В.¹, Осипкина О. В.¹, Мицура В. М.¹,
Зяцьков А. А.¹, Терешков Д. В.², Скуратов А. Г.¹**

¹Учреждение образования

«Гомельский государственный медицинский университет»,

²Учреждение здравоохранения

«Гомельская областная инфекционная клиническая больница»

г. Гомель, Республика Беларусь

Введение

Вирусные гепатиты — одна из самых актуальных проблем современной медицины, так как является наиболее массовой вирусной инфекцией человека. Одна из особенностей современного периода распространения инфекций — увеличение доли микст-форм (сочетанных форм) различной этиологии. Инфицированность двумя и более вирусами гепатита, а также инфицированность гепатитом и вирусом иммунодефицита человека, ухудшает прогноз заболевания, качество жизни пациентов, наносит огромный экономический ущерб. Сочетанные формы вирусных гепатитов возникают в результате одновременного внедрения в организм человека двух и более гепатотропных вирусов (ко-инфекция) и при наслоении одной инфекции на другую (суперинфекция). Выявление микст-инфекций стало возможно благодаря расширению диагностических возможностей. В 1997 г. у пациентов с посттрансфузионным гепатитом неизвестной этиологии обнаружен новый вирус, получивший название TTV (transfusion-transmitted virus — вирус, передающийся при трансфузии крови, *Torque teno*

virus). TTV имеет сферическую форму, размеры 30–50 нм, наружная оболочка отсутствует, геном состоит из кольцевой одноцепочечной молекулы ДНК размером около 3,8 тыс. нуклеотидов [1]. Последовательность генома TTV включает две большие открытые рамки считывания и несколько малых, а также нетранслируемый регион. Некоторые исследователи классифицируют более 40 генотипов вируса. Основным методом для изучения распространения TTV является полимеразная цепная реакция (ПЦР), однако из-за высокой изменчивости вирусного генома сложно найти универсальный набор праймеров для всех существующих TTV-генотипов. По данным многочисленных исследований установлена широкая распространенность TTV в разных группах населения во многих регионах мира, статистически чаще TTV-инфекция регистрируется среди пациентов, имевших в анамнезе переливание крови, по сравнению с теми, кто не получал гемотрансфузий [2, 3]. Несмотря на широкое распространение TTV, его патогенность остается предметом дискуссий. В связи с гепатотропностью вируса особый интерес представляет его роль в развитии заболеваний печени.

SENV открыт в 1999 г., не имеет оболочки, содержит одноцепочечную кольцевую ДНК, около 3900 нуклеотидов, имеет 3 рамки считывания [4]. Существует несколько генотипов вируса, их обозначили буквами А, В, С, D, E, F, G, H. ДНК различных генотипов SENV отличаются друг от друга на 15–40 %, а от ДНК близких к ним TTV — на 40–60 %. Варианты SENV-D и SENV-H чаще всего ассоциируются с посттрансфузионным гепатитом.

В настоящее время методы выявления TTV и SENV не стандартизованы и продолжают совершенствоваться. Информация о распространенности TTV и SENV у населения Беларуси отсутствует.

Цель

Разработка методики выявления ДНК TTV и SENV, а также оценка частоты распространения данных инфекций в разных группах населения, в первую очередь у пациентов с заболеваниями печени и доноров крови.

Материал и методы исследования

В исследовании были задействованы пациенты учреждения «Гомельская областная инфекционная клиническая больница», государственного учреждения здравоохранения «Гомельская городская клиническая больница № 3» и безвозмездные доноры Гомельской станции переливания крови. Экспериментальная выборка составила 282 пациента. В основную группу вошли 220 пациентов с заболеваниями печени: среди них 37 — с острым гепатитом, 103 — с хроническим гепатитом и 80 — с циррозом печени невыясненной этиологии. Контрольная группа: здоровые добровольцы: 50 доноров и 12 лиц без признаков заболевания печени, имеющие отрицательные результаты обследования на маркеры вирусных гепатитов. Все участники исследования были информированы о целях исследования и предстоящих процедурах, у всех было получено информированное письменное согласие на участие в исследовании.

Для выявления ДНК SENV и TTV использовали метод ПЦР с последующей электрофоретической детекцией и верификацией методом секвенирования по Сэнгеру. В качестве материала для выделения ДНК использована плазма крови пациентов. Для выделения ДНК использовали готовые коммерческие наборы. Для проведения ПЦР, электрофоретической детекции и секвенирования использовали реагенты фирмы «ThermoScientific» (США). Амплификацию проводили, используя амплификатор «PalmCycler» фирмы «CorbettResearch» (Австралия). Праймеры синтезированы компанией «Праймтех» (Беларусь) [5]. Детекцию продуктов ПЦР проводили с помощью горизонтального гель-электрофореза (агароза 1,7 %). Электрофорез проводили по стандартной схеме, используя электрофоретическую камеру фирмы «Helicon». Для окрашивания применяли раствор бромистого этидия. Для визуализации полученных результатов использовали видеосистему фирмы «Bio-Rad» (США) GelDocXR, для переноса изображения на компьютер и регистрации протоколов использовали программу «QuantiOne» той же фирмы. Структура использованных праймеров для проведения гнездовой ПЦР, выявляющей N22 область ORF1 приведена в таблице 1.

Таблица 1 — Структура праймеров для проведения гнездовой ПЦР, выявляющей область ORF1 TTV

Название праймера	Нуклеотидная последовательность	Размер фрагмента, п.н.
TT6, прямой	ACAGACAGAGGAGAAGGCAA	267
TT7, обратный	TACCATTTAGCTCTCATT	
TT8, прямой	AACATGTTATGGATAGACTGG	
TT9, обратный	CTGGCATTTTACCATTTCCA	

Программа амплификации для проведения первого раунда ПЦР с праймерами TT6 и TT7: денатурация 1 цикл — 95 °С, 3 мин; 25 циклов (95 °С — 25 с, 55 °С — 15 с, 45 °С — 15 с, 72 °С — 25 с); финальная элонгация 1 цикл 72 °С — 2 мин. Ампликоны, полученные в результате первого раунда ПЦР, использовали для второго раунда с праймерами TT8 и TT9. Программа амплификации для второго раунда ПЦР: денатурация 1 цикл — 95 °С, 3 мин; 30 циклов (95 °С — 20 с, 50 °С — 20 с, 72 °С — 20 с); финальная элонгация 1 цикл 72 °С — 2 мин. В результате амплификации получен целевой продукт размером 267 п.н. (пар нуклеотидов). Подтверждение соответствия амплифицированных фрагментов геному TTV проводили методом секвенирования с помощью генетического анализатора ABI PRISM 310 фирмы «Applied Biosystems» (США), используя реагенты той же фирмы. Анализ полученных результатов проводили при помощи программного пакета Sequencing Analysis Software 5.1.1 («Applied Biosystems», США), CLC Sequence Viewer 6.5.4. Полученные данные о нуклеотидной последовательности в формате FASTA были использованы для поиска с помощью программы BLAST (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast/>). Показано соответствие полученной нуклеотидной последовательности ORF1 региону вируса TTV, таким образом можно использовать апробированную методику для выявления данного региона вируса TTV. В связи с разнообразием генотипов TTV маловероятно, что один набор праймеров будет обнаруживать все типы TTV. Результатами многочисленных исследований показано, что праймеры из UTR-региона имеют больший потенциал для обнаружения нескольких генотипов TTV, в отличие от ORF-праймеров, с помощью которых можно обнаружить ограниченное число генотипов. Таким образом, дальнейшим направлением работы является подбор праймеров для UTR-региона.

Для выявления вируса SEN выбраны праймеры, типизирующие 2 генотипа: SEN-VD и SEN-VH, структура использованных праймеров приведена в таблице 2.

Таблица 2 — Структура праймеров для выявления ДНК SEN-вирусов

Название праймера	Нуклеотидная последовательность	Размер фрагмента, п.н.
SEN-AI, прямой	TWCYMAACGACCAGCTAGACCT	193
SEN-AI, обратный	GTTTGTGGTGAGCAGAACGGA	
SEN-VD-1148, прямой	CTAAGCAGCCCTACTCATCCAGAAC	
SEN-VD-1341, обратный	GCAGTTGACCGCAAAGTTACAAGAG	
SEN-VH-1020F, прямой	TTGGCTGCACCTTCTGGTT	118
SEN-VH-1138R, обратный	AGAAATGATGGGTGAGTGTTAGGG	

Для первого раунда использовали праймеры SEN-AI. Программа амплификации: денатурация 1 цикл — 95 °С, 3 мин; 55 циклов (95 °С — 15 с, 60 °С — 20 с, 72 °С — 20 с); финальная элонгация 1 цикл 72 °С — 2 мин. Для второго раунда использовали праймеры SEN-VD, программа амплификации: денатурация 1 цикл — 95 °С, 3 мин; 30 циклов (95 °С — 15 с, 61 °С — 15 с, 72 °С — 5 с); SEN-VH, программа амплификации: денатурация 1 цикл — 95 °С, 3 мин; 30 циклов (95 °С — 10 с, 60 °С — 15 с, 72 °С — 5 с). В результате амплификации получены специфические фрагменты размером 193 п.н. (SEN-V-D) и 118 п.н. (SEN-V-H). Верификацию амплифицированных фрагментов ДНК регионов SEN-V-D и SEN-V-H проводили методом секвенирования.

Статистическая обработка полученной информации проводилась с помощью пакета «Microsoft Excel 2010» и программы «Statistica» 6.0. Для анализа количественных данных использовался непараметрический критерий χ^2 , точный критерий Фишера; тест Манна — Уит-

ни. Расчет доверительных интервалов (ДИ) проводился с помощью откорректированного метода Вальда. Статистически значимой считалась 95 % вероятность различий ($p < 0,05$).

Результаты исследования и их обсуждение

Отработана методология по выявлению ДНК TTV, SENV-D и SENV-H, на основе которой получены предварительные результаты по распространенности TTV- и SENV-инфекции среди доноров и пациентов с различными формами парентеральных вирусных гепатитов В, С, гепатитов с неуточненной этиологией и циррозом печени различной этиологии. Значимых различий в частоте выявления ДНК TTV в группе пациентов с заболеваниями печени и контрольной группе не выявлено. Частота выявления ДНК SENV-D в контрольной группе (37,1 %) выше, чем у пациентов с заболеваниями печени (24,6 %, $p = 0,05$). У пациентов с острым гепатитом частота выявления ДНК SENV-D (10,8 %) значимо ниже по сравнению с контрольной группой ($p = 0,005$) и с группой хронического гепатита (30,1 %, $p = 0,028$). При хроническом гепатите частота выявления ДНК SENV-H в группе пациентов с хроническим гепатитом (51,5 %) более чем в 2 раза ($p = 0,002$) превышает частоту выявления ДНК SENV-H в группе пациентов с острым гепатитом (21,6 %).

ЛИТЕРАТУРА

1. Molecular cloning and characterization of a novel DNA virus (TTV) associated with posttransfusion hepatitis of unknown etiology / H. Okamoto [et al.] // *Hepatology Res.* — 1998. — № 10. — P. 1–16.
2. Torque Tenovirus (TTV) distribution in healthy Russian population / E. V. Vasilyev [et al.] // *Virology Journal.* — 2009. — № 6(1). — P. 134–138.
3. Болормаа, Б. Некоторые эпидемиологические аспекты ТТ вирусной инфекции / Б. Болормаа, И. В. Малов, Е. Д. Савилов // *Сибирский медицинский журнал.* — 2005. — № 50 (1). — С. 13–17.
4. SEN virus infection / A. Sagir [et al.] // *J. Med. Virol.* — 2004. — Vol. 14, № 3. — P. 141–148.
5. Molecular detection method for all known genotypes of TT virus (TTV) and TTV-like viruses in thalassemia patients and healthy individuals / Y. W. Hu [et al.] // *Journal of Clinical Microbiology.* — 2005. — Vol. 43(8). — P. 3747–3754.

УДК 616.155.294-009.7-039.13-071

РЕЗУЛЬТАТЫ ДИАГНОСТИКИ И ЭРАДИКАЦИИ *H. PYLORI* У ПАЦИЕНТОВ С ИДИОПАТИЧЕСКОЙ ТРОМБОЦИТОПЕНИЧЕСКОЙ ПУРПУРОЙ (предварительные данные)

**Гавриленко Т. Е., Ковзик Н. И., Бредихина Е. В.,
Гавриленко Д. И., Терещенко Н. И., Жандаров М. Ю.**

**Государственное учреждение
«Республиканский научно-практический центр
радиационной медицины и экологии человека»
г. Гомель, Республика Беларусь**

Введение

Согласно положения 10 Маастрихт-V-Флорентийского консенсуса, имеются доказательства связи *H. pylori* с идиопатической тромбоцитопенической пурпурой (ИТП). Недавние исследования японских и итальянских авторов показали значительные результаты эрадикационной терапии у лиц с ИТП, причем наилучший ответ на лечение наблюдался в популяции с высокой инфицированностью *H. pylori*. Консенсусы по ведению пациентов с ИТП рекомендуют эрадикационную терапию всем пациентам с положительными тестами на инфекцию *H. pylori*. Степень рекомендации по диагностике данной инфекции у детей — низкая, ввиду того, что мировые эксперты ссылались на противоречивые литературные данные, в то же время отдельных исследованиях приводятся результаты о хорошем эффекте эрадикационной терапии у детей с ИТП.

Цель

С помощью диагностики инфекции *H. pylori* у лиц, обратившихся на консультативный прием к терапевту и гематологу ГУ «РНПЦ РМ и ЭЧ» изучить распространенность *H. pylori* среди пациентов с ИТП, провести эрадикационную терапию у лиц с положительным тестом на инфекцию и оценить результат лечения.