

**ФУНДАМЕНТАЛ ВА
КЛИНИК ТИББИЁТ
АХБОРОТНОМАСИ**

**BULLETIN OF FUNDAMENTAL
AND CLINIC MEDICINE**

2026, №2 (22)

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
РЕСПУБЛИКИ УЗБЕКИСТАН

**BULLETIN OF FUNDAMENTAL
AND CLINIC MEDICINE**
**ФУНДАМЕНТАЛ ВА КЛИНИК
ТИББИЁТ АХБОРОТНОМАСИ**
**ВЕСТНИК ФУНДАМЕНТАЛЬНОЙ И
КЛИНИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ**

Научный журнал по фундаментальным и клиническим
проблемам медицины
основан в 2022 году

Бухарским государственным медицинским институтом
имени Абу Али ибн Сино
выходит один раз в 2 месяца

Главный редактор – Ш.Ж. ТЕШАЕВ

Редакционная коллегия:

*С.С. Давлатов (зам. главного редактора),
Р.Р. Баймурадов (ответственный секретарь),
М.М. Амонов, Г.Ж. Жарилкасинова,
А.Ш. Иноятов, Д.А. Хасанова, Е.А. Харибова,
Ш.Т. Уроков, Б.З. Хамдамов, Ф.К. Халлоқов*

*Учредитель Бухарский государственный
медицинский институт имени Абу Али ибн Сино*

2026, № 2 (22)

Адрес редакции:

Республика Узбекистан, 200100, г.
Бухара, ул. Гиждуванская, 23.

Телефон (99865) 223-00-50

Факс (99866) 223-00-50

Сайт <https://bsmi.uz/journals/fundamental-ya-klinik-tibbiyot-ahborotnomasi/>

e-mail baymuradovravshan@gmail.com

О журнале

*Журнал зарегистрирован
в Управлении печати и информации
Бухарской области
№ 1640 от 28 мая 2022 года.*

*Журнал внесен в список
утвержденный приказом № 370/б
от 8 мая 2025 года реестром ВАК
в раздел медицинских наук.*

Отпечатано в типографии ООО
“Шарк-Бухоро”. г. Бухара,
ул. Узбекистон Мустакиллиги, 70/2.

Редакционный совет:

Абдурахманов Д.Ш.	(Самарканд)
Абдурахманов М.М.	(Бухара)
Ахмедов Р.М.	(Бухара)
Баландина И.А.	(Россия)
Бахронов Ж.Ж.	(Бухара)
Бернс С.А.	(Россия)
Газиев К.У.	(Бухара)
Деев Р.В.	(Россия)
Дустова Н.К.	(Бухара)
Зокирова Н.Б.	(Ташкент)
Казакова Н.Н.	(Бухара)
Калашникова С.А.	(Россия)
Каримова Н.Н.	(Бухара)
Курбонов С.С.	(Таджикистан)
Маматов С.М.	(Кыргызстан)
Мамедов У.С.	(Бухара)
Мирзоева М.Р.	(Бухара)
Миршарапов У.М.	(Ташкент)
Набиева У.П.	(Ташкент)
Нуралиев Н.А.	(Хорезм)
Наврұзов Р.Р.	(Бухара)
Нарзиева Д.Ф.	(Бухара)
Орипов Ф.С.	(Самарканд)
Орипова Ф.Ш.	(Бухара)
Одилова Г.Р.	(Бухара)
Очилов К.Р.	(Бухара)
Раупов Ф.С.	(Бухара)
Рахмонов К.Э.	(Самарканд)
Рахметов Н.Р.	(Казахстан)
Рахматова С.Н.	(Бухара)
Султонова Л.Дж.	(Бухара)
Сайдуллаев З.Я.	(Самарканд)
Удочкина Л.А.	(Россия)
Файзиев Х.Б.	(Бухара)
Хамдамова М.Т.	(Бухара)
Хамдамов И.Б.	(Бухара)
Ходжаева Д.Т.	(Бухара)
Худойбердиев Д.К.	(Бухара)
Шодиева М.С.	(Бухара)
Эшонов О.Ш.	(Бухара)

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА ВЫЯВЛЕНИЯ ДНК ВИРУСА ПАПИЛЛОМЫ ЧЕЛОВЕКА БЕЗ ЭТАПА ЭКСТРАКЦИИ

Ахмедова Л.М., Ибадуллаева Н.С., Ахмедова Ш.Х., Турабова Н.Р.

Научно-исследовательский институт Вирусологии Республиканского специализированного научно-практического медицинского центра эпидемиологии, микробиологии, инфекционных и паразитарных заболеваний, г.Ташкент, Узбекистан

Резюме: Проведена сравнительная оценка выявления ДНК вируса папилломы человека (ВПЧ) без использования классического этапа экстракции. В исследовании проанализированы различные варианты пробоподготовки на основе додецилсульфата натрия с применением вспомогательных реагентов. Выявление ДНК ВПЧ осуществлялось методом ПЦР в режиме реального времени. Показано, что использование комбинации 0,1% додецилсульфата натрия и 0,02% Tris-HCl обеспечивает наиболее благоприятное соотношение чувствительности и специфичности при качественном выявлении ДНК ВПЧ. Полученные результаты свидетельствуют о потенциальной применимости упрощённого подхода к пробоподготовке и необходимости дальнейшей оптимизации метода.

Ключевые слова: ВПЧ, ДНК, ПЦР в режиме реального времени, додецилсульфат натрия, чувствительность, специфичность.

A COMPARATIVE EVALUATION OF HUMAN PAPILLOMAVIRUS DNA DETECTION WITHOUT AN EXTRACTION STEP

Akhmedova L.M., Ibadullaeva N.S., Akhmedova Sh.X., Turabova N.R.

The Research Institute of Virology of the Republican specialized scientific practical medical center of epidemiology, microbiology, infectious and parasitic diseases, Tashkent, Uzbekistan

Resume. A comparative evaluation of human papillomavirus (HPV) DNA detection without the traditional extraction step was conducted. The study analyzed various sodium dodecyl sulfate-based sample preparation options with auxiliary reagents. HPV DNA was detected using real-time PCR. A combination of 0.1% sodium dodecyl sulfate and 0.02% Tris-HCl was shown to provide the most favorable sensitivity-specificity ratio for the qualitative detection of HPV DNA. The obtained results demonstrate the potential applicability of a simplified sample preparation approach and the need for further optimization of the method.

Keywords: HPV, DNA, real-time PCR, sodium dodecyl sulfate, sensitivity, specificity.

ОДАМ ПАПИЛЛОМА ВИРУСИ ДНКСИНИ ЭКСТРАКЦИЯ БОСҚИЧИСИЗ АНИҚЛАШНИ ҚИЁСИЙ БАҲОЛАШ

Ахмедова Л.М., Ибадуллаева Н.С., Ахмедова Ш.Х., Турабова Н.Р.

Республика ихтисослаштирилган эпидемиология, микробиология, юқумли ва паразитар касалликлар илмий-амалий тиббиёт марказининг Вирусология илмий-тадқиқот институти, Тошкент ш.,
Ўзбекистон

Резюме: Классик экстракция босқичисиз одам папиллома вируси (ОПВ) ДНКсини аниқлашнинг бўйича қиёсий баҳолаш ўтказилди. Тадқиқотда қўшимча реагентлар ёрдамида турли хил натрий додецил сульфат асосидаги намуналарни тайёрлаш вариантлари таҳлил қилинди. ОПВ ДНКси реал вақт режимида ПЗР ёрдамида аниқланди. 0,1% натрий додецил сульфат ва 0,02% Tris-HCl комбинацияси ОПВ ДНКсини сифатли аниқлаш учун энг қулай сезувчанлик ва спецификлик нисбатини таъминлаши кўрсатилди. Олинган натижалар намуналарни тайёрлашга соддалаштирилган ёндашувнинг потенциал қўлланилишини ва усулни янада оптималлаштириши зарурлигини кўрсатади.

Калит сўзлар: ОПВ, ДНК, реал вақт режимида ПЗР, натрий додецил сульфат, сезувчанлик, спецификлик.

Вирус папилломы человека (ВПЧ) является одной из ведущих причин ВПЧ-ассоциированных злокачественных новообразований. В 2019 году ВПЧ был причиной около 620 000 случаев онкологических заболеваний среди женщин и 70 000 случаев среди мужчин во всём мире [1]. Рак шейки матки является наиболее распространённым ВПЧ-ассоциированным злокачественным новообразованием у

женщин. В 2022 году он занимал четвёртое место среди ведущих причин онкологической заболеваемости и смертности от рака среди женщин, на его долю приходилось около 660 000 новых случаев заболевания и приблизительно 350 000 случаев смерти во всём мире [2]. До 93% ВПЧ-ассоциированных онкологических заболеваний у женщин приходится на рак шейки матки [1], при этом персистирующая инфекция онкогенными типами ВПЧ рассматривается как необходимый этиологический фактор его развития. В связи с этим лабораторная диагностика ВПЧ играет ключевую роль в программах скрининга, раннего выявления и профилактики онкологических заболеваний [3]. Наиболее широко используемые методы выявления ВПЧ основаны на амплификации ДНК вируса методом полимеразной цепной реакции (ПЦР), что обеспечивает высокую аналитическую чувствительность и специфичность [4]. Однако стандартные протоколы ПЦР-диагностики включают этап экстракции нуклеиновых кислот, который является трудоёмким, требует использования специализированных реагентов и оборудования и увеличивает общую продолжительность анализа [5]. Эти ограничения особенно значимы для лабораторий с ограниченными ресурсами.

В последние годы возрастает интерес к разработке упрощённых методов пробоподготовки, направленных на исключение или минимизацию этапа экстракции нуклеиновых кислот и основанных на применении детергентов и термической обработки образцов [6, 7]. Додecilсульфат натрия (SDS) широко применяется для разрушения клеточных и вирусных оболочек и высвобождения нуклеиновых кислот, пригодных для последующей амплификации [8, 9]. Тем не менее данные о применении подобных подходов для качественного выявления ДНК ВПЧ остаются ограниченными, а влияние различных реагентов на диагностическую эффективность требует дополнительного изучения. В этой связи актуальным является поиск альтернативных методов, позволяющих упростить или исключить этап экстракции ДНК, а также снизить трудоёмкость, стоимость и продолжительность лабораторного анализа.

Целью исследования явилась оценка возможности выявления ДНК ВПЧ без использования классического этапа экстракции.

Материал и методы исследования. В исследование включены 60 клинических образцов, из них 30 были ДНК-ВПЧ-положительными и 30 - ДНК-ВПЧ-отрицательными по результатам молекулярного анализа. Были протестированы три группы экспресс-протоколов, включающие различные комбинации SDS (sodium dodecyl sulfate) и вспомогательных реагентов (Tris-HCl, N-lauroylsarcosine sodium salt, sodium dodecylbenzenesulfonate, 2-mercaptoethanol). Все варианты включали инкубацию при 95°C в течение 5 минут. Полученные лизаты использовались непосредственно для качественного выявления ДНК ВПЧ ПЦР в режиме реального времени с применением набора «ROSSAmed HPV screen» («ООО РОССА», Узбекистан). Условия амплификации: начальная денатурация при 95°C в течение 15 минут; далее 5 циклов, включающих денатурацию при 95 °C в течение 5 секунд, отжиг и элонгацию при 63°C в течение 10 секунд и элонгацию при 67°C в течение 10 секунд; затем 35 циклов, включающих денатурацию при 95°C в течение 5 секунд, отжиг и детекцию флуоресцентного сигнала по каналам FAM, HEX, ROX, Cy5 и Cy5.5 при 63°C в течение 10 секунд и элонгацию при 67°C в течение 10 секунд. Результаты реакции оценивались по наличию или отсутствию сигнала амплификации в соответствии с протоколом набора. Диагностическую эффективность экспресс-протоколов оценивали путём расчёта чувствительности и специфичности.

Результаты исследования и обсуждение. В рамках исследования проведена сравнительная оценка диагностической эффективности экспресс-протоколов пробоподготовки для качественного выявления ДНК ВПЧ с использованием различных комбинаций додecilсульфата натрия и вспомогательных реагентов. Выявление ДНК ВПЧ осуществлялось методом ПЦР в режиме реального времени. Оценка проводилась в рамках трёх экспериментальных протоколов, отличавшихся концентрацией додecilсульфата натрия, составом дополнительных компонентов и этапом добавления деионизированной воды

При использовании протокола на основе 0,05% додecilсульфата натрия без дополнительных реагентов с добавлением деионизированной воды после инкубации специфичность метода составила 88%, чувствительность - 79%. При применении варианта с добавлением деионизированной воды до инкубации специфичность составляла 82%, чувствительность - 74%. Включение 0,25% N-lauroylsarcosine sodium salt в состав экстракционной смеси на основе 0,05% додecilсульфата натрия характеризовалось специфичностью 75% и чувствительностью 69%. Добавление 3% 2-mercaptoethanol к 0,05% додecilсульфату натрия сопровождалось наиболее низкими показателями диагностической эффективности: специфичность составляла 52%, чувствительность - 38%. Использование 0,05% додecilсульфата натрия в сочетании с 0,5% sodium dodecylbenzenesulfonate обеспечивало специфичность 77% и чувствительность 61%.

При использовании протокола с концентрацией додецилсульфата натрия 0,1% и 0,02% Tris-HCl с добавлением деионизированной воды после инкубации показатели специфичности и чувствительности составляли 90% и 81% соответственно и были выше, чем при других протестированных комбинациях реагентов. Добавление 0,25% N-lauroylsarcosine sodium salt к 0,05% додецилсульфату натрия характеризовалось специфичностью 79% и чувствительностью 76%. Включение 3% 2-mercaptoethanol в протокол на основе 0,05% додецилсульфата натрия сопровождалось снижением диагностических показателей до 58% по специфичности и 42% по чувствительности. Использование 0,5% sodium dodecylbenzenesulfonate в сочетании с 0,05% додецилсульфата натрия обеспечивало специфичность 79% и чувствительность 64%.

При применении протоколов, включающих комбинацию 0,1% додецилсульфата натрия, 0,25% N-lauroylsarcosine sodium salt и 0,02% Tris-HCl, специфичность и чувствительность составляли 82% и 76% соответственно. Добавление 3% 2-mercaptoethanol к 0,05% додецилсульфату натрия и 0,02% Tris-HCl характеризовалось специфичностью 61% и чувствительностью 44%. Использование 0,5% sodium dodecylbenzenesulfonate в сочетании с 0,05% додецилсульфата натрия и 0,02% Tris-HCl обеспечивало специфичность 81% и чувствительность 66%.

В целом сравнительный анализ всех протестированных протоколов показал, что при использовании комбинации 0,1% додецилсульфата натрия и 0,02% Tris-HCl наблюдались наиболее высокие значения чувствительности и специфичности при качественном выявлении ДНК ВПЧ методом ПЦР в режиме реального времени. Остальные комбинации реагентов характеризовались более низкими показателями диагностической эффективности.

Полученные результаты подтверждают возможность применения экспресс-протоколов пробоподготовки для качественного выявления ДНК ВПЧ методом ПЦР в режиме реального времени. Использование додецилсульфата натрия в низких концентрациях в сочетании с кратковременной термической обработкой обеспечивало эффективное высвобождение ДНК, пригодной для последующей амплификации, что согласуется с ранее опубликованными данными о применении детергентов в молекулярной диагностике вирусных инфекций [9, 10]. Наиболее высокие показатели диагностической эффективности в настоящем исследовании были получены при использовании комбинации додецилсульфата натрия и Tris-HCl, что указывает на целесообразность включения буферного компонента в состав экспресс-протокола. Tris-HCl широко применяется в молекулярно-биологических методах в качестве буфера, обеспечивающего стабильность pH, что имеет принципиальное значение для активности ДНК-полимеразы и воспроизводимости ПЦР-реакции [11, 12]. В условиях экспресс-пробоподготовки без этапов очистки данный фактор приобретает особую значимость. Включение дополнительных детергентов, таких как N-lauroylsarcosine sodium salt и sodium dodecylbenzenesulfonate, не приводило к увеличению чувствительности и специфичности по сравнению с оптимизированным протоколом на основе додецилсульфата натрия и Tris-HCl, что согласуется с данными сравнительных исследований [9]. Ранее было показано, что повышение концентраций поверхностно-активных веществ или других ингибирующих компонентов может ухудшать эффективность амплификации за счёт ингибирующего воздействия на полимеразную активность [12]. Особого внимания заслуживают результаты, полученные при добавлении 2-mercaptoethanol. Во всех протестированных комбинациях данный компонент сопровождался выраженным снижением диагностической эффективности. Несмотря на известные восстановительные свойства 2-mercaptoethanol и его применение в ряде протоколов экстракции нуклеиновых кислот, при отсутствии этапов очистки его присутствие, по-видимому, оказывает ингибирующее влияние на ПЦР-амплификацию. Аналогичные эффекты ингибирования ПЦР восстановителями и компонентами лизирующих смесей ранее описаны в литературе [13]. Полученные данные указывают на нецелесообразность использования 2-mercaptoethanol в составе экспресс-протоколов, предназначенных для прямого применения в ПЦР.

В целом результаты исследования свидетельствуют о том, что оптимизация состава протокола пробоподготовки имеет существенное значение для обеспечения диагностической эффективности при качественном выявлении ДНК ВПЧ. Минималистичный подход, основанный на использовании эффективного детергента и буферной стабилизации, представляется наиболее рациональным при разработке упрощённых методов выявления ДНК ВПЧ. Следует отметить, что исследование выполнено в формате качественного выявления ДНК ВПЧ без оценки вирусной нагрузки, а также на ограниченной выборке образцов. В связи с этим дальнейшие исследования, включая расширение выборки и дополнительную оптимизацию методических параметров, необходимы для уточнения диагностических характеристик разработанного подхода.

Выводы. Экспресс-протокол экстракции ДНК ВПЧ, основанный на использовании 0,1% додецилсульфата натрия и 0,02% Tris-HCl с инкубацией при 95°C в течение 5 минут, продемонстрировал наилучшие показатели чувствительности и специфичности при качественном выявлении ДНК ВПЧ методом ПЦР в режиме реального времени. В то же время полученные значения не достигают максимальных показателей, характерных для стандартных методов, что обуславливает необходимость проведения дальнейших исследований, направленных на оптимизацию протокола и повышение его диагностических характеристик.

Список литературы:

1. de Martel C, Georges D, Bray F, Ferlay J, Clifford GM. Global burden of cancer attributable to infections in 2018: a worldwide incidence analysis. *Lancet Glob Health*. 2020 Feb;8(2):e180-e190. doi: 10.1016/S2214-109X(19)30488-7. Epub 2019 Dec 17. PMID: 31862245.
2. Ferlay J, Colombet M, Soerjomataram I, Parkin DM, Piñeros M, Znaor A, Bray F. Cancer statistics for the year 2020: An overview. *Int J Cancer*. 2021 Apr 5. doi: 10.1002/ijc.33588. Epub ahead of print. PMID: 33818764.
3. Bhatla N, Singhal S. Primary HPV screening for cervical cancer. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*. 2020 May;65:98-108. doi: 10.1016/j.bpobgyn.2020.02.008. Epub 2020 Mar 2. PMID: 32291178.
4. Kleter B, van Doorn LJ, ter Schegget J, Schrauwen L, van Krimpen K, Burger M, ter Harmse B, Quint W. Novel short-fragment PCR assay for highly sensitive broad-spectrum detection of anogenital human papillomaviruses. *Am J Pathol*. 1998 Dec;153(6):1731-9. doi: 10.1016/S0002-9440(10)65688-X. PMID: 9846964; PMCID: PMC1866345.
5. Liu W, Yue F, Lee LP. Integrated Point-of-Care Molecular Diagnostic Devices for Infectious Diseases. *Acc Chem Res*. 2021 Nov 16;54(22):4107-4119. doi: 10.1021/acs.accounts.1c00385. Epub 2021 Oct 26. PMID: 34699183.
6. Notomi T, Okayama H, Masubuchi H, Yonekawa T, Watanabe K, Amino N, Hase T. Loop-mediated isothermal amplification of DNA. *Nucleic Acids Res*. 2000 Jun 15;28(12):E63. doi: 10.1093/nar/28.12.e63. PMID: 10871386; PMCID: PMC102748.
7. Natarajan VP, Zhang X, Morono Y, Inagaki F and Wang F (2016) A Modified SDS-Based DNA Extraction Method for High Quality Environmental DNA from Seafloor Environments. *Front. Microbiol*. 7:986. doi: 10.3389/fmicb.2016.00986.
8. Lever, M. A., Torti, A., Eickenbusch, P., Michaud, A. B., Santl-Temkiv, T., and Jorgensen, B. B. (2015). A modular method for the extraction of DNA and RNA, and the separation of DNA pools from diverse environmental sample types. *Front. Microbiol*. 6:476. doi: 10.3389/fmicb.2015.00476.
9. Ko K, Lokteva LM, Akuffo GA, Phyto Z, Chhiong C, Bunthen E, Ouoba S, Sugiyama A, Akita T, Rattana K, Vichit O, Takahashi K, Tanaka J. A comparative study of extraction free detection of HBV DNA using sodium dodecyl sulfate, N-lauroylsarcosine sodium salt, and sodium dodecyl benzene sulfonate. *Sci Rep*. 2024 Oct 26;14(1):25442. doi: 10.1038/s41598-024-75944-7. PMID: 39455809; PMCID: PMC11512040.
10. Cole KH, Bouin A, Ruiz C, Semler BL, Inlay MA, Lupták A. Single-tube collection and nucleic acid analysis of clinical samples for SARS-CoV-2 saliva testing. *Sci Rep*. 2022 Mar 10;12(1):3951. doi: 10.1038/s41598-022-07871-4. PMID: 35273232; PMCID: PMC8913774.
11. Green MR, Sambrook J. *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*. 4th ed. Cold Spring Harbor (NY): Cold Spring Harbor Laboratory Press; 2019. 2028 p.
12. Schrader C, Schielke A, Ellerbroek L, John R. PCR inhibitors - occurrence, properties and removal. *J Appl Microbiol*. 2012 Nov;113(5):1014-26. doi: 10.1111/j.1365-2672.2012.05384.x. Epub 2012 Jul 24. PMID: 22747964.
13. Sidstedt M, Rådström P, Hedman J. PCR inhibition in qPCR, dPCR and MPS-mechanisms and solutions. *Anal Bioanal Chem*. 2020 Apr;412(9):2009-2023. doi: 10.1007/s00216-020-02490-2. Epub 2020 Feb 12. PMID: 32052066; PMCID: PMC7072044.

Для цитирования: Ахмедова Л.М., Ибадуллаева Н.С., Ахмедова Ш.Х., Турабова Н.Р. Сравнительная оценка выявления ДНК вируса папилломы человека без этапа экстракции // Вестник фундаментальной и клинической медицины. – 2026. – № 2(22). – С. 306–309. doi: <https://doi.org/10.5281/zenodo.18643218>