

СОВРЕМЕННАЯ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА И ПРОФИЛАКТИКА ВИЧ-ИНФЕКЦИИ

К.А. Бочарова, доцент

Д.Р. Кретов, ординатор

Белгородский государственный национальный исследовательский университет
(Россия, г. Белгород)

DOI:10.24412/2500-1000-2024-1-1-90-93

Аннотация. В данной статье рассматриваются современные молекулярно-генетические подходы к диагностике ВИЧ-инфекции, а также превентивные мероприятия, направленные на предотвращение передачи вируса иммунодефицита человека. Цель – изучение методов лабораторной диагностики и профилактики ВИЧ-инфекции. Проводится сравнительный анализ методов молекулярно-генетических исследований, используемых в практическом здравоохранении. Исследуются проблемы получения ложноположительных и ложноотрицательных результатов клинических исследований на ВИЧ-инфекцию.

Ключевые слова: ВИЧ-инфекция, лабораторная диагностика, молекулярно-генетические, профилактика, половой, медицинских.

Эпидемиологическая ситуация по ВИЧ-инфекции в Российской Федерации остается напряженной и продолжает ухудшаться. Основной причиной инфицирования продолжает оставаться употребление инъекционных наркотиков, также увеличивается число лиц, заразившихся половым путем, не входящих в группы высокого риска. В последние годы возросло число лиц, инфицированных при гемотрансфузиях компонентов крови, не подлежащих длительному хранению от доноров, находящихся с серонегативным периоде. Особую тревогу вызывает обстоятельство, что медицинские работники в большинстве случаев принимают неверные решения по вопросам лабораторной диагностики и профилактики ВИЧ-инфекции. Зачастую медицинские работники, чья трудовая детальность не связана непосредственно с ВИЧ-инфицированными, испытывают к ним чувство неприязни и пренебрежения, что затрудняет оказание ВИЧ-инфицированным больным специализированной медико-санитарной помощи. Инфицирование вирусом клеток хозяина определяется их свойствами, а также тропностью самого вируса. Разные изоляты ВИЧ отличаются по тропизму к клеткам: оболочечный gp 120 лиганд изолятов, адаптированных к переживающим Т-

клеткам, не обеспечивает рецепции к макрофагам и, наоборот, адаптированные к макрофагам не способны инфицировать Т клетки [1]. Основным естественным путем проникновения ВИЧ в организм человека является половой. Входными воротами для вируса при этом служат гениталии или прямая кишка, конкретно их слизистые оболочки. Отсюда ВИЧ распространяется лимфогенно, поступает в кровоток и различные органы и ткани. Патоген проникает через однослойный эпителий прямой кишки намного лучше, чем через многослойный эпителий влагалища, в этом причина повышенного риска передачи ВИЧ при анальных половых контактах между гомо- и гетеросексуалистами по сравнению с вагинальными контактами. ВИЧ лимфотропен вдвойне так как с одной стороны он поражает в первую очередь клетки лимфоидного ряда, с другой – распространяется лимфогенно. Не менее важно нарушение реакции В-клеток на растворимые антигены, продуцируемые микробами – пришельцами. Поликлональная активация В-клеток приводит к гипергаммаглобулинемии и ослаблению их способности продуцировать новые антитела. Т – лимфоциты, подвергающиеся воздействию вирусных белков, которые образуются при гибели ВИЧ – инфицированных клеток и

вирионов, теряют способность к пролиферации под влиянием митогенов. Кроме того, инфицированные вирусом Т4- лимфоциты теряют способность экспрессировать CD4+ молекулы на своей поверхности, что отражается на эффективности их взаимодействия с клетками главного комплекса гистосовместимости. Инфицирование вирусом макрофагов и моноцитов ослабляет их антиген – представляющую и фагоцитарную функции. Самокупирование острой ретровирусной инфекции сопровождается нарастанием в крови специфических антител до уровня, определяемого доступными методами [2]. Основными целями молекулярно – генетических исследований ВИЧ-инфекции являются установление факта инфицирования ВИЧ, а также установление детального клинического диагноза. Имеется несколько поколений тест систем для определения антител и антигенов к ВИЧ. В тест-системах первого поколения в качестве антигена на твердую фазу нанесен лизат инактивированный нагреванием лизат культуры лимфоидных клеток человека, инфицированных ВИЧ-1. Данные тест-системы включают все антигены ВИЧ-1, поэтому они выявляют весь спектр специфических анти-ВИЧ антител предпочтительны для проведения скрининговых обследований. В тест системах второго поколения в качестве антигена нанесены отдельные антигены ВИЧ-1 и ВИЧ-2, полученные генноинженерным способом – рекомбинантные тест-системы. Качество скрининговых тест-систем этого поколения характеризуется полнотой представленных на твердой фазе вирусных антигенов, отсутствие каких-либо из них является приводит к ложноотрицательным результатам [3]. В тест системах третьего поколения используются синтетические пептиды, которые состоят из отдельных антигенных детерминант ВИЧ-1 и ВИЧ-2. Они достаточно специфичны, что обеспечивает стандартность тестов и воспроизводимость результатов. Их производство безопасно и относительно недорого. В тест-системах четвертого поколения используются комбинированные иммуносорбенты, которые содержат лизатный ВИЧ-1, а также рекомбинантные

и пептидные антигены. На твердую фазу наносят лизатные или рекомбинантные белки ВИЧ-1. В отличие от непрямого ИФА, тестируемую сыворотку добавляют в лунку с сорбированным антигеном одновременно с конъюгатом. Конъюгат в этих тест-системах состоит из антител к ВИЧ-1, меченых пероксидазой. Происходит конкурентное связывание между сывороточными антителами и конъюгатом за антиген ВИЧ-1. В указанной тест-системе используется неразведенная сыворотка, благодаря чему даже при низком содержании антител их количество будет доминировать над концентрацией меченых антител в конъюгате, разведенным в эквимольном соотношении с сорбированным на планшете антигеном [4]. При учете результатов все окрашенные лунки будут соответствовать отрицательному результату, а бесцветные – позитивному. Исследования с помощью конкурентной тест-системы занимают меньше времени и являются весьма чувствительными. Использование плащечных тест – систем в хорошо оснащенных лабораториях позволяет тестировать большие серии сывороток. После проведения скринингового исследования сывороток возникает вопрос, насколько истинны получаемые результаты. Ложноположительные результаты могут быть получены при обследовании больных хроническими инфекционными, аутоиммунными, а также онкологическими заболеваниями. Сыворотки неинфицированных беременных женщин, пациентов после гемотрансфузий, хронических алкоголиков, также часто проявляются как положительные. Причинами положительных реакций могут быть перекрестные реакции аутоантител с эпिटтопами ВИЧ, а также с антигенами главного комплекса гистосовместимости I и II класса, входящих в иммуносорбент, в виде неспецифических примесей. Ложноотрицательные результаты бывают обусловлены несоответствием антигенов, нанесенных на твердую фазу и выявляемыми антителами. Проблему достоверности положительных результатов, которые получают первичным скринингом пытаются решить, вычисляя показатель прогностического значения положительного

результата, полученного в используемой тест-системе. Для его определения применяют панель истинно положительных и отрицательных сывороток, предварительно подтвержденных в иммуноблоте. Большинство тест-систем при высокой чувствительности и специфичности характеризуется низким показателем прогностического значения, что указывает на необходимость дальнейшего подтверждения позитивных результатов скрининга. После проведения скринингового теста, все положительные результаты перепроверяют в другой иммуноферментной тест-системе, а затем в более чувствительном тесте – иммуноблоте [5]. В этой системе отдельные структурные и промежуточные белки, полученные из лизата инфицированных вирусом лимфоидных клеток, фракционируют в полиакриламидном геле методом электрофореза. Затем на гель помещают нитроцеллюлозную мембрану и методом электрофореза переносят на нее фракционированные белки ВИЧ. Учитывают результаты иммуноблота по выявлению окрашенных полос на диагностических нитроцеллюлозных мембранах. Повышение чувствительности данного метода достигается за счет того, что на твердой фазе представлены все индивидуальные структурные и промежуточные белки ВИЧ. Кроме того, нитроцеллюлозные мембраны лучше фиксируют специфические иммунные комплексы, за счет большей эффективности связывания белков. Использование биотин-авидиновой системы конъюгатов в иммуноблоте также приводит к существенному повышению его чувствительности. В соответствии с рекомендациями экспертов ВОЗ, результат, полученный методом иммуноблота, считается положительным, если хотя бы одна окрашенная полоса с наружными белками ВИЧ-1 и/или ВИЧ-2. Сыворотки, подтвержденные с помощью иммуноблота, можно считать истинно положительными, содержащими антитела к ВИЧ. Однако, при интерпретации результатов в иммуноблоте можно столкнуться с определенными трудностями. Выявление отдельных полос с другими белками ВИЧ, трактуется как неопределенный или сомнительный ре-

зультат. Причины таких результатов до конца не ясны. В иммуноблоте могут встречаться и ложноположительные результаты. Доказано, что антитела к клеточным антигенам главного комплекса гистосовместимости I класса могут давать ложноположительный результат в области gp41 ВИЧ-1, а аутоантитела к клеточным антигенам главного комплекса гистосовместимости II класса. Таким образом, несмотря на несомненные преимущества, иммуноблот имеет ряд недостатков. К ним относятся: высокая стоимость одного анализа, трудоемкость исследования, недостаточная стандартизация при учете результатов. При ВИЧ-инфекции с использованием полимеразно цепной реакции определяют провирусную ДНК, геномную РНК и м-РНК вируса. Эффективность данной реакции настолько высока, что можно получить результат, исследуя ДНК одной клетки. Это достигается селективным умножением специфических последовательностей ДНК до такого уровня, когда они могут быть легко выявлены. Парадоксально, но широкое распространение ПЦР в лабораторной практике лимитировано именно его сверхвысокой чувствительностью. Контаминация реагентов и ДНК при проведении ПЦР является главной причиной получения ложноположительных результатов [6].

Выявление источников инфекции, скрининговое тестирование населения являются одним из направлений государственного санитарно-эпидемиологического надзора, другим аспектом является медицинская профилактика. Имеются два приоритета в профилактике ВИЧ-инфекции и в максимальной отсрочке ее манифестной стадии – собственно синдрома приобретенного иммунодефицита. Главным приоритетом был и остается сам вирус иммунодефицита человека и вызываемый им паралич иммунной системы у инфицированного человека. Возможные меры воздействия при этом подходе хорошо известны – использование средств контрацепции при половых контактах, эффективные лекарственные препараты и надежные вакцины. К сожалению, применяемые в настоящее время ан-

тивирусные препараты отличаются ограниченной эффективностью и выраженной токсичностью, надежды на создание в ближайшем будущем вакцины против ВИЧ также не оправдываются. Определенные успехи принесли методы неспецифической профилактики, однако теоретически действенные рекомендации использования презервативов внедряются трудно и не повсеместно. Другим приоритетным подходом является первичная и вторичная профилактика тех СПИД-ассоциируемых

инфекций, которые обуславливают фатальный исход заболевания. Именно потому всё более актуальным становятся разработка и применение методов их ранней диагностики, адекватной терапии и вторичной профилактики, которые могут служить действенным дополнением и в какой-то степени психологической компенсацией пока еще ограниченных возможностей радикального излечения и вакцинопрофилактики.

Библиографический список

1. Покровский В.В. Эпидемиология и профилактика ВИЧ-инфекции и СПИД. – М.: Медицина, 2016. – 248 с.
2. Рахманова А.Г. ВИЧ-инфекция / А.Г. Рахманова, Е.Н. Виноградова, Е.Е. Воронин, А.А. Яковлев. – СПб.: Питер, 2017. – 187 с.
3. Брико Н.И., Зуева Л.П., Покровский В.И. и др.: Эпидемиология: Учебник. Т. 1. – М.: ООО «Издательство «Медицинское информационное агентство», 2018. – 832 с.
4. Аглиуллина С.Т., Хасанова Г.Р. Современные стратегии профилактики ВИЧ-инфекции (обзор литературы) // Acta biomedica scientifica. – 2018. – Vol. 3, № 1. – С. 26-33.
5. Ковальчук Л.В., Ганковская Л.В. Клиническая иммунология и аллергология с основами общей иммунологии. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2015.
6. Покровский В.В., Юрин О.Г., Кравченко А.В. и др. Национальные рекомендации по диспансерному наблюдению и лечению больных ВИЧ-инфекцией // Эпидемиология и инфекционные болезни (приложение). – 2016. – № 6. – 124 с.

MODERN MOLECULAR GENETIC DIAGNOSIS AND PREVENTION OF HIV INFECTION

K.A. Bocharova, Associate Professor
D.R. Kretov, Resident
 Belgorod State National Research University
 (Russia, Belgorod)

Abstract. *This article discusses modern molecular genetic approaches to the diagnosis of HIV infection, as well as preventive measures aimed at preventing the transmission of the human immunodeficiency virus. The goal is to study methods of laboratory diagnosis and prevention of HIV infection. A comparative analysis of molecular genetic research methods used in practical healthcare is carried out. The problems of obtaining false-positive and false-negative results from clinical trials for HIV infection are explored.*

Keywords: *HIV-infection, laboratory diagnostics, molecular genetic, prevention, sexual, medical.*