

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение  
высшего профессионального образования «Красноярский государственный  
медицинский университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого»  
Министерства здравоохранения Российской Федерации

Фармацевтический колледж

## **КУРСОВАЯ РАБОТА**

Тема: ВИЧ - инфекция

по специальности 31.02.03 Лабораторная диагностика

ПМ 04. Проведение лабораторных микробиологических и иммунологических  
исследований

МДК 04.01 Теория и практика лабораторных микробиологических и  
иммунологических исследований

Выполнил: \_\_\_\_\_ Тамонина О.В.

подпись, дата

Руководитель: \_\_\_\_\_ Жукова М.В.

подпись, дата

Работа оценена: \_\_\_\_\_

(оценка, подпись преподавателя)

Красноярск, 2019

## Оглавление

<b>ВВЕДЕНИЕ</b> .....	3
<b>ГЛАВА 1. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ВИЧ - ИНФЕКЦИИ</b> .....	4
1.1. Способы передачи ВИЧ.....	5
1.2. Эволюция ВИЧ – инфекции .....	6
1.3. Строение вирусной частицы ВИЧ.....	8
1.4. Строение генома ВИЧ.....	10
1.5. Развитие ВИЧ – инфекции в организме человека .....	10
1.6. Патогенез и клиника .....	10
1.7. Лечение ВИЧ - инфекции .....	11
1.8. Нетрадиционные методы лечения.....	13
<b>ГЛАВА 2. СТАТИСТИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ ЗАБОЛЕВАЕМОСТИ ВИЧ - ИНФЕКЦИЕЙ</b> .....	14
<b>ГЛАВА 3. ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА ВИЧ - ИНФЕКЦИИ</b> .....	17
3.1. Иммуноферментный анализ.....	18
3.2. Иммуноблоттинг .....	20
3.3. Полимеразная цепная реакция.....	22
<b>ЗАКЛЮЧЕНИЕ</b> .....	24
<b>СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ</b> .....	25

## ВВЕДЕНИЕ

ВИЧ – инфекция, на сегодняшний день является одной из самых острых и часто встречаемых среди населения всего мира. Распространение этой инфекции, затрагивает все сферы жизни общества и касается каждого из нас.

До сих пор не решен вопрос о причинах его возникновения, как и неизвестна средняя и максимальная продолжительность его скрытого периода. В нашей стране, ВИЧ – инфекция имеет самые высокие в мире темпы развития эпидемии.

Уже десятки миллионов людей всего мира живут с ВИЧ, их окружают сотни миллионов родных и близких. Число людей, затронутых эпидемией, растет год от года. Война с ВИЧ – инфекцией ведется на планете с невероятно нарастающими усилиями. Ежемесячно в научной прессе публикуются новые сведения о ВИЧ и его возбудителе, которые часто заставляют коренным образом менять точку зрения на патологию этого заболевания.

В отличие от других заболеваний диагноз «ВИЧ-инфекция» сопровождается множеством социальных и психологических проблем, трудностей в межличностных отношениях. Проблема ВИЧ – инфекции остается актуальной уже многие десятки лет и неизвестно, сколько еще потребуется времени для её изучения.

**Цель работы:** изучить диагностику ВИЧ – инфекции и методов ее определения

**Задачи:**

1. Изучить общую характеристику ВИЧ – инфекции, способы передачи, строение вирусной частицы, патогенез и клинику, лечение
2. Рассмотреть статистические данные заболеваемости населения
3. Изучить методы диагностики ВИЧ – инфекции

**Объект исследования:** инфицированный человек

**Предмет исследования:** кровь

## **ГЛАВА 1. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ВИЧ - ИНФЕКЦИИ**

Синдром приобретенного иммунодефицита человека, вызываемый вирусом иммунодефицита человека, является смертельной болезнью, средств, для лечения которой в настоящее время не существует.

Из некоторых источников считается, что вирус ВИЧ был передан от обезьян к человеку примерно в 1926 году. Недавние исследования показывают, что человек приобрел этот вирус в Западной Африке. До 1930-х годов вирус никак не проявлял себя. В 1959 году в Конго умер мужчина. Позднейшие исследования медиков, проанализировавших его историю болезни, показали, что, возможно, это был первый зафиксированный в мире случай смерти от СПИДа. В 1978 году у мужчин в США и Швеции, а также в Танзании и на Гаити были обнаружены симптомы одного и того же заболевания.

Только в 1981 году Центр по контролю и профилактике болезней сообщил о выявлении у молодых гомосексуалистов в Лос-Анджелесе и Нью-Йорке новой болезни. В США было выявлено около 440 носителей вируса ВИЧ. Около 200 из этих людей умерли. Так как большинство больных были гомосексуалистами, новая болезнь получила название "Иммунодефицит, передаваемый гомосексуалистами".

5 июня 1981 года американский ученый из Центра по контролю над заболеваниями Майкл Готлиб впервые описал новое заболевание, протекающее с глубоким поражением иммунной системы. Тщательный анализ привел американских исследователей к выводу о наличии неизвестного ранее синдрома, получившего в 1982 году название - синдром приобретенного иммунодефицита (СПИД). Иммунный дефицит, от которого страдали заболевшие СПИДом, ранее встречался только как врожденный порок недоношенных новорожденных детей. Врачи установили, что у этих больных снижение иммунитета не было врожденным, но было приобретено в зрелом возрасте.

В 1983 году французским ученым Монтанье была установлена вирусная природа болезни. Он обнаружил в удаленном у больного СПИДом лимфатическом узле вирус, назвав его LAV (lymphadenopathy associated virus).

24 апреля 1984 года директор Института вирусологии человека Мэрилендского университета доктор Роберт Галло объявил о том, что он нашел истинную причину СПИДа. Ему удалось выделить вирус из периферической крови больных СПИДом. Он изолировал ретровирус, получивший название HTLV-III (Human T-lymphotropic virus type III). Эти два вируса оказались идентичными.

### 1.1. Способы передачи ВИЧ

В 1985 году было установлено, что ВИЧ передается через жидкие среды тела: кровь, сперму, материнское молоко. В том же году был разработан первый тест на ВИЧ, на основе которого в США и Японии начали проверять на ВИЧ донорскую кровь и ее препараты.

Основными путями передачи ВИЧ являются:

- Небезопасный анальный или вагинальный, или оральный контакт (т.е. без презерватива). В настоящее время огромная доля случаев передачи ВИЧ-инфекции приходится именно на незащищенный половой контакт. Чтобы защитить себя от ВИЧ необходимо воздерживаться от незащищенных половых контактов;
- Через кровь. Попадание крови ВИЧ-инфицированного или больного СПИДом в организм здорового человека. Подавляющее большинство ВИЧ-инфицированных составляют люди, употребляющие или употреблявшие наркотики внутривенно, они пользуются общим шприцем и иглой, которые никогда не обрабатываются, и раствором наркотика, в котором может содержаться ВИЧ. Кроме того, заражение может произойти при переливании крови, а также ее продуктов от ВИЧ-инфицированных доноров или при использовании нестерильного, необработанного медицинского инструмента, содержащего частицы крови инфицированных;

- От матери к ребёнку. Заражение ребёнка возможно: во время беременности (когда ВИЧ проникает через плаценту к плоду), в процессе родов (когда во время прохождения ребенка через родовые пути матери ВИЧ вместе с кровью может попасть в организм новорожденного через легкоранимую кожу), при грудном вскармливании ребенка (когда ВИЧ из молока матери через микротравмы во рту ребенка попадает в его организм). У ВИЧ-инфицированной матери при своевременном использовании специальной антивирусной терапии повышается вероятность рождения здорового ребенка.

Невозможно заразиться ВИЧ-инфекцией: пользуясь общими с инфицированным посудой или туалетом; находясь с ним в бане или плавая в одном бассейне, здороваясь за руку, обнимаясь и целуясь. ВИЧ-инфекция не передается в быту и не переносится насекомыми.

Вирус иммунодефицита может существовать в организме человека в течение десяти – двенадцати лет, никак себя не проявляя. А на начальные признаки его проявления многие люди не обращают должного внимания, принимая их за симптомы других, на первый взгляд не опасных заболеваний. Если вовремя не начать процесс лечения, наступает конечная стадия ВИЧ – СПИД. Вирус иммунодефицита может стать базой для развития других болезней, носящих инфекционный характер. Наряду с риском развития СПИДа повышается и риск появления других инфекционных заболеваний.

## 1.2. Эволюция ВИЧ – инфекции

Никогда открытие вируса не вызывало столь обширного резонанса. Прямым следствием стало небывало высокое финансирование разработок, профилактики, лечения людей с ВИЧ, а также фундаментальных исследований.

В середине 80-х годов в них включились и выдающиеся ученые с мировым именем, и молодые специалисты многих стран. В результате очень скоро о ВИЧ стало известно значительно больше, чем о некоторых других, давно описанных, инфекциях.

Изучение ВИЧ позволило сделать множество открытий, причём не, только в вирусологии, но и в смежных дисциплинах – в иммунологии, эпидемиологии, молекулярной биологии.

Существуют и другие важные вопросы. Один из таковых – когда и как появился вирус иммунодефицита человека. Не имея правдивых фактов об этом и о путях эволюции ВИЧ, трудно рассчитывать на создание эффективных мер защиты.

Практически сразу после первых сообщениях о ВИЧ появилась информация, о его чрезвычайно высокой изменчивости – настолько высокой, что в природе, по-видимому, нет двух абсолютно идентичных генов ВИЧ. Различия между вирусами, выделенными в разных странах, достигают подчас 40-50 %. Очевидно, что столь высокие различия не могут сказаться на подходах к стратегии разработки вакцины.

Изучение изменчивости генома вируса, закономерностей распространения его субтипов в разных странах и уязвимых группах расширяет наши представления о механизмах, эволюции ВИЧ. Эти исследования оказываются полезными и в практической медицине, ибо позволяют прогнозировать развитие эпидемии. Знание вариантов ВИЧ, доминирующих на конкретной территории, важно для разработки будущих вакцин.

В апреле 1986 года в журнале “Сайенс” было опубликовано статья, что группа американских ученых во главе с Эссексом, выделила у здоровых людей в Сенегале вирус, сходный с вирусом африканских зеленых мартышек: сыворотки зараженных людей реагировали с антигенами вируса мартышек, но не давали реакции с антигенами ВИЧ. Предполагалось, что вирус мог быть предшественником ВИЧ. Авторы наименовали выделенный вирус HTLV-4. HTLV-4, подобно ВИЧ, инфицирует Т-хелперы, но не убивает их. Электронный микроскоп не зафиксировал его отличий от ВИЧ. По мнению Эссекса, хотя HTLV-4 инфицирует Т-хелперы у клинически здоровых людей, не исключено, что в последующем они заболеют.

В конце 1986 года Монтанье и сотрудники объявили об открытии нового вируса у двух больных СПИДом. По своему строению он не отличался от ВИЧ, тоже убивал Т-хелперы. Но, в противоположность ВИЧ, в сыворотках больных отсутствовали антитела к последнему и ДНК обоих вирусов не были идентичны. Авторы обозначили новый вирус как HIV-2 (ВИЧ-2). Сыворотки больных при ВИЧ-2 реагировали с вирусом зеленых мартышек, поэтому Монтанье считает, что у них может быть общее происхождение.

Сравнительное изучение геномов ВИЧ-1 и ВИЧ-2 показало, что в эволюционном плане ВИЧ-2 далеко отстоит от ВИЧ-1. Авторы высказывают предположение, что оба вируса существовали задолго до возникновения современной эпидемии СПИДа. Можно сделать предположение, что по мере исследований будут найдены неизвестные ранее разновидности ВИЧ-подобных вирусов человека.

Сообщение об одном из таких открытий появилось в 1990 году. Предполагается, что выделен новый тип вируса иммунодефицита человека - ВИЧ-3. Вирус был выделен от клинически здоровой женщины, которая была половым партнером положительного по антителам к ВИЧ мужчины. Сыворотка женщины была слабоположительной в ИФА, с низким титром в непрямом иммунофлюоресцентном тесте с антителами к ВИЧ-1 и давала слабые полосы в положениях, характерных для белков p24 и gp41 в иммуноблоте. Анализ выделенного ретровируса с помощью модифицированного теста на связывание антигенов показал, что выделенный изолят не является ВИЧ-1. Сравнение белков выделенного изолята - ANT70 - с белками ВИЧ-1 и ВИЧ-2 показало, что их молекулярная масса отличается от соответствующих белков ВИЧ-1 и ВИЧ-2. Сыворотки женщины, а потом и ее партнера лучше реагировали с ANT70, чем с ВИЧ-1 и ВИЧ-2.

### 1.3. Строение вирусной частицы ВИЧ

Вирион имеет сферическую форму, диаметром 100-150 нм. Основные черты строения сходны с другими представителями подсемейства лентивирусов. Наружная оболочка вируса, состоит из бимолекулярного слоя

липидов, который имеет происхождение из клеточной мембраны клетки хозяина. В эту мембрану встроены рецепторные образования, по виду напоминающие грибы. “Шляпка гриба” состоит из четырех молекул гликопротеида gp120, который обладает сродством к молекулам CD4. “Ножка гриба” состоит из четырех молекул гликопротеида gp41, которые встроены в мембрану. Так как мембрана имеет клеточное происхождение, то на ее поверхности и внутри нее сохраняется множество клеточных белков. Под наружной оболочкой располагается сердцевина вируса, которая имеет форму усеченного конуса и образована белком p24. Промежуток между наружной вирусной мембраной и сердцевиной вируса заполнен матриксным белком p17. Внутри сердцевины располагаются две молекулы вирусной РНК, связанные с низкомолекулярными белками (p9 и p7) основного характера.

Каждая молекула РНК содержит 9 генов ВИЧ. Три из них - gag, env и pol - являются структурными. Имеются также три регуляторных гена: tat, rev и nef, и три дополнительных гена: vif, vpr и vif. Эти гены содержат информацию, необходимую для продукции белков, которые управляют способностью вируса инфицировать клетку, реплицироваться и вызывать заболевание. Концы каждой молекулы РНК содержат дублированную последовательность РНК, так называемый длинный концевой повтор - LTR. Участки LTR действуют как переключатели для управления процессом вирусной транскрипции, взаимодействуя с белками ВИЧ или с белками клетки хозяина.

Кроме РНК там же находятся вирусные ферменты: обратная транскриптаза, состоящая из двух субъединиц - p64/53, протеаза - p22, эндонуклеаза (интеграза) - p31. Обратная транскриптаза осуществляет синтез вирусной ДНК с молекулы вирусной РНК. Эндонуклеаза производит встраивание вирусной ДНК в геном клетки хозяина, в результате чего образуется провирус. Протеаза участвует в “нарезании” предшественников вирусных белков при созревании новой вирусной частицы.

#### 1.4. Строение генома ВИЧ

Важность исследования строения генома ВИЧ обусловлена тем, что в основе всех патологических процессов, происходящих при заражении вирусом, лежит экспрессия вирусных генов.

Изучение структуры генетического аппарата ВИЧ с помощью молекулярного клонирования выявило его сложную организацию и значительные различия между изолятами. ДНК провируса имеет 9283 пары нуклеотидов (п.н.) и окружена длинными концевыми повторами - LTR - в 638 п.н. В LTR выявляются все обычные регуляторные элементы.

#### 1.5. Развитие ВИЧ – инфекции в организме человека

С момента, когда вирус иммунодефицита проникает в организм человека, начинается многолетняя борьба иммунной системы с болезнью. Ослабление иммунной системы - развивается постепенно и зачастую незаметно для самого человека и окружающих. В течение долгого времени лишь по специальным анализам крови можно определить, насколько успешно организм борется с вирусом.

#### 1.6. Патогенез и клиника

В Российской Федерации используется классификация ВИЧ-инфекции, предложенная В.И. Покровским, которая была принята в 1989 году. В 2001 году Покровским была составлена новая версия классификации. Согласно новой классификации, ВИЧ-инфекция в организме проходит 5 стадий:

- Стадия инкубации: с момента заражения до клинических проявлений острой инфекции и/или выработки антител (в среднем от 3 недель до 3 месяцев);
- Стадия первичных проявлений: "А" - бессимптомная, когда клинические проявления ВИЧ-инфекции отсутствует, а ответом на внедрение ВИЧ является выработка антител. "Б" - острая ВИЧ-инфекция без вторичных заболеваний (разнообразные клинические проявления, в большинстве своем похожие на симптомы других инфекций). "В" - острая ВИЧ-инфекция с вторичными

заболеваниями (на фоне временного снижения Т-4 лимфоцитов развиваются вторичные заболевания - ангина, бактериальная пневмония, кандидоз. Продолжительность клинических проявлений острой ВИЧ-инфекции обычно составляет 2 - 3 недели;

- Латентная стадия (субклиническая): медленное прогрессирование иммунодефицита. Единственным клиническим проявлением является увеличение лимфоузлов, которое может и отсутствовать. Длительность латентной стадии от 2 - 3-х до 20 и более лет, в среднем 6 - 7 лет. Отмечается постепенное снижение уровня Т-4 лимфоцитов;

- Стадия вторичных заболеваний: продолжается репликация ВИЧ, приводящая к гибели Т-4 лимфоцитов и к развитию на фоне иммунодефицита вторичных заболеваний, инфекционных или онкологических. Симптомы на этой стадии имеют обратимый характер, то есть могут проходить сами по себе или в результате лечения. В зависимости от тяжести вторичных заболеваний выделяют следующие стадии: "А" - для нее характерны бактериальные, грибковые и вирусные поражения слизистых и кожных покровов, воспалительные заболевания верхних дыхательных путей, "Б" - более тяжелые и длительные кожные поражения, саркома Капоши, потеря веса, поражения периферической нервной системы и внутренних органов, "В" - тяжелые, угрожающие жизни оппортунистические заболевания;

- Терминальная стадия: поражение органов и систем носят необратимое течение. Даже адекватно проводимые противовирусная терапия и лечение второстепенных заболеваний не эффективны, и больной погибает в течение нескольких месяцев.

### 1.7. Лечение ВИЧ - инфекции

Различают 2 метода лечения:

- Традиционный;
- Нетрадиционный.

## Традиционный метод лечения

Лучшее лечение, существующее сейчас для защиты иммунной системы при ВИЧ - комбинированная антиретровирусная терапия. Исследования показывают, что она может улучшить функционирование иммунной системы и помочь ей восстановиться, сдерживая вирус.

Существуют другие подходы к лечению ВИЧ-инфекции, которые направлены непосредственно на иммунную систему, но не один из них не прошел пока полностью клинические испытания и не был одобрен. В первую очередь это интерлейкин-2, гормон роста и различные терапевтические вакцины против ВИЧ.

Интерлейкин-2, пожалуй, самый доступный из препаратов, воздействующих на иммунную систему при ВИЧ. Сейчас проходят два международных клинических испытания этого препарата, призванные определить, сможет ли он повысить качество жизни и сохранить иммунное здоровье людей с ВИЧ. Интерлейкин-2 - это вещество, вырабатываемое самим организмом, которое способствует воспроизводству клеток CD4. Предполагается, что это поможет людям, принимающим антиретровирусную терапию, повысить свой иммунный статус. Есть некоторые данные о том, что интерлейкин-2 также может увеличить продолжительность жизни клеток CD4.

Гормон роста (Серостим) сейчас проходит одобрение как препарат для лечения синдрома потери веса при ВИЧ-инфекции. Недавние исследования показали, что гормон роста может увеличить размер и стимулировать работу одной железы - тимуса, что может привести к восстановлению иммунной системы. Тимус - орган в грудной полости, в котором клетки CD4 "дозревают", становясь взрослыми клетками. Однако до сих пор не до конца понятно, насколько эффективен будет гормон роста для поддержки иммунной системы при ВИЧ.

Терапевтические вакцины, сейчас разработано несколько вакцин для лечения ВИЧ-инфекции, которые сейчас проходят те или иные стадии клинических испытаний. Эти вакцины не следует путать с профилактическими,

которые должны предотвратить передачу ВИЧ. Цель таких вакцин - "научить" иммунную систему контролировать вирус самостоятельно. Сейчас многие такие вакцины испытываются в сочетании с антиретровирусной терапией. Лечение больных СПИДом включает в применение противовирусных препаратов, которые подавляют репродукцию вируса. После подтверждения диагноза определяют подходы к дальнейшему ведению больных. Подход к выбору терапии должен быть индивидуальным, основанным на степени риска.

### 1.8. Нетрадиционные методы лечения

Наиболее известные и доступные методы альтернативной медицины - это так называемые нефармакологические терапии. Наиболее часто используются акупунктура, акупрессура, йога, медитация, молитва, массаж, гипнотерапия. Эти виды альтернативной медицины обычно совершенно безвредны и улучшают состояние здоровья в целом.

## **ГЛАВА 2. СТАТИСТИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ ЗАБОЛЕВАЕМОСТИ ВИЧ - ИНФЕКЦИЕЙ**

На начало 2017 года общее число случаев ВИЧ-инфекции среди граждан России достигло 1 114 815 человек (в мире – 36,7 миллионов ВИЧ-инфицированных, в т.ч. 2,1 млн. детей). А по расчетам международной организации ЮНЕЙДС в России уже более 1 500 700 ВИЧ-инфицированных, более того, согласно расчетам американских и швейцарских ученых в России сейчас проживает более 2 миллионов больных ВИЧ-инфекцией. Из них умерло по разным причинам 243 863 ВИЧ-инфицированных (по данным формы мониторинга Роспотребнадзора «Сведения о мероприятиях по профилактике ВИЧ-инфекции, гепатитов В и С, выявлению и лечению больных ВИЧ») (в мире в 2016 году умерли 1 млн. человек).

В декабре 2016 г. 870 952 россиян, жили с диагнозом ВИЧ-инфекция. На 01 июля 2017 года число ВИЧ-инфицированных в России составило 1 167 581 человек, из них умерли по разным причинам 259 156 человек (в 1-ом полугодии 2017 года уже умерло 14 631 ВИЧ-инфицированных, что на 13,6% больше, чем за 6 месяцев 2016 года.). Показатель пораженности населения РФ ВИЧ-инфекцией в 2017 году составил 795,3 зараженных ВИЧ на 100 тысяч населения России. На 01.11.2017 год в России проживает почти 1 миллион (924 600) ВИЧ-инфицированных. В 2016 г. было выявлено 103 438 новых случаях ВИЧ-инфекции среди граждан России (в мире 1,8 млн.), что на 5,3% больше, чем в 2015 г. С 2005 г. в стране регистрируется рост количества новых выявленных случаев заражения ВИЧ, в 2011-2016 годах ежегодный прирост составлял в среднем 10%. Показатель заболеваемости ВИЧ-инфекцией в 2016 г. составил 70,6 на 100 тыс. населения.

Поскольку статистика ВИЧ 2018 года показывает, что Россия по количеству вновь инфицированных наконец-то стала европейским лидером.

По состоянию на 01 января 2019 года кумулятивное число ВИЧ-инфицированных, зарегистрированных в Красноярском крае за весь период, составляет 34363 человека, кумулятивный показатель заболеваемости составил

1195,1 случаев на 100 тыс. населения, что на 17,4 % ниже показателя заболеваемости по СФО (1446,9 случаев на 100 тысяч населения). Количество проживающих на территории края ВИЧ-инфицированных (без выбывших и умерших) составляет 22228 человек, показатель пораженности ВИЧ-инфекцией населения Красноярского края составляет 772,7 на 100 тысяч населения.

В течение 2018 года зарегистрировано 3615 случаев заболевания ВИЧ-инфекцией, из них 3360 случаев с впервые установленным диагнозом ВИЧ-инфекции, уровень первичной заболеваемости составил 116,8 на 100 тысяч населения, что на 1,2 % превышает уровень заболеваемости прошлого года (115,4), при этом остается на 3,9 % ниже, чем в среднем по Сибирскому федеральному округу (121,6), но в 2 раза выше заболеваемости по Российской Федерации (58,2).

По уровню заболеваемости ВИЧ-инфекцией среди субъектов СФО Красноярский край занимает 5 место.

Эпидемический процесс охватывает все территории Красноярского края. Наиболее пораженными территориями остаются города: Норильск, Лесосибирск, Канск, Ачинск, Красноярск, на которые приходится 59,4 % всех зарегистрированных случаев ВИЧ-инфекции в Красноярском крае за год.

В 2018 году выше краевого показателя (116,8 случаев на 100 тысяч населения) зарегистрирована заболеваемость в 8 территориях края: в г. Канске в 1,7 раза (199,98), в Канском районе в 1,3 раза (154,09), в г. Норильске в 1,13 раза (132,05), в Таймырском районе в 1,15 раза (135,38), в г. Красноярске в 1,07 раза (125,5) в г. Ачинске в 1,05 раза (122,97), в г. Дивногорске в 1,048 раза (122,42), в г. Лесосибирске в 1,024 раза (119,71).

В 2017 году выше краевого показателя (115,4 случаев на 100 тысяч населения) регистрировалась заболеваемость в 4-х территориях: г. Канске в 1,98 раза (228,93), в Таймырском районе в 1,29 раза (149,07), в г. Ачинске в 1,18 раза (135,99), в г. Красноярске в 1,14 раза (131,85).

В Красноярском крае сохраняется высокий уровень распространения ВИЧ-инфекции среди беременных женщин (1,1 %). Ежегодно увеличивается

число родов у ВИЧ-инфицированных женщин, в 2018 году зарегистрировано 475 родов, родилось 479 детей. За весь период наблюдения в крае от ВИЧ-положительных матерей родилось 4757 детей. Из числа детей с законченным периодом клинического наблюдения у 231 ребенка подтвержден диагноз ВИЧ-инфекции, в том числе 30 детей были инфицированы матерями в период грудного вскармливания.

Всего в крае по разным причинам за период эпидемии умерло 6587 ВИЧ-инфицированных, из них в 2018 году 869 человек (2017 – 866 чел., 2016 – 816 чел, 2015 – 705 чел.). Показатель смертности среди ВИЧ-инфицированных в крае за весь период наблюдения составил 228,9 случаев на 100 тысяч населения.

Доля умерших от причин, связанных с ВИЧ-инфекцией, в 2018 году снизилась до 28,9 % или 252 чел. (2017 – 30,2 % или 262 чел., 2016 – 30,5 % или 253 чел.), что сопоставимо с показателями Российской Федерации (28,0 %). Основными причинами смертности, связанной с ВИЧ-инфекцией, являются прогрессирующее клиническое течение заболевания, присоединение микобактериальной инфекции при низкой приверженности к лечению или отсутствии лечения ВИЧ-инфекции.

### ГЛАВА 3. ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА ВИЧ - ИНФЕКЦИИ

Антитела к ВИЧ появляются начиная от трех недель до трех месяцев после инфицирования вирусом, и в дальнейшем их можно почти всегда обнаружить, даже если вирус подавляет в какой-то мере функцию лимфоцитов и выработку антител. Однако титр выявляемых нейтрализующих антител низок, а действие незначительно - они не приостанавливают заметным образом развитие инфекции и заболевания.

Основным методом лабораторной диагностики ВИЧ-инфекции является обнаружение антител к вирусу с помощью иммуноферментного анализа.

В настоящее время существуют следующие методы диагностики ВИЧ:

- косвенные тесты, позволяют обнаружить специфические антитела к ВИЧ, которые имеются почти у 100 % ВИЧ-инфицированных;
- прямые тесты определяют собственно ВИЧ, антигены ВИЧ или нуклеиновые кислоты ВИЧ.

Для определения антител к ВИЧ необходимо использовать, по крайней мере, два разных теста: предварительный тест (скрининг-тест) и подтверждающий тест.

Большинства современных скрининг-тестов основываются на иммуноферментном анализе (ИФА) или сходных методах; они обладают высокой чувствительностью (до 99 %) и специфичностью (до 99,5 %). Используемые в тесте антигены соответствуют антителам, которые могли выработаться в организме пациента к ВИЧ определённого типа (ВИЧ-1, ВИЧ-2, ВИЧ-1-N, ВИЧ-1-O, ВИЧ-1-M). На данный момент существует уже 4 поколения ИФА. Чем выше поколение, тем более точным и быстрым будет анализ. Современные анализы ИФА помогают выявить антиген p24, который появляется раньше антител вируса. Именно это позволяет увидеть проявление вируса раньше, чем это было в прошлые годы. Возможно, через некоторое время появятся еще несколько поколений, которые смогут выявить ВИЧ уже в начале заражения.

Для подтверждения результатов скрининг-тестов наиболее часто и используют иммуноблоттинг. Иммуноблоттинг проводится только при получении положительного результата скрининг-теста

Отрицательный результат обследования на антитела не гарантирует отсутствия ВИЧ-инфекции, так как в течение нескольких недель и месяцев после заражения антитела не могут быть обнаружены.

### 3.1. Иммуноферментный анализ

Метод ИФА определяет наличие в крови антител. Если тест находит присутствие антител в крови, значит, и вирус присутствует.

В цикле развития вируса можно выделить несколько стадий:

- Инкубационный период;
- Период острой инфекции;
- Латентный период;
- Стадия вторичных заболеваний.

На первом этапе ответная реакция не возникает, либо ее интенсивность настолько мала, что индикаторы ее не фиксируют. В это время проводить анализ нецелесообразно. Второй период начинается примерно через 6 недель после заражения. Именно в этот срок проводят первичное обследование. При проведении анализа важно учитывать индивидуальные особенности организма. Поэтому для получения достоверных результатов тест повторяют через 12 недель (через 3 месяца) и через 6 месяцев. Если во все или часть указанных периодов анализ оказался положительным, назначают другой анализ на ВИЧ (иммуноблоттинг). Он должен показать степень развития заболевания и специфику его течения.

При проведении анализа порцию крови помещают в специальный аппарат и обрабатывают иммуноферментными препаратами. Это должно способствовать выделению белков p15, p17, p24, p31. Через определенное время помещают сыворотку в прибор, фиксирующий наличие иммунных

клеток. При ИФА обнаруживают не антигены вируса, а наличие антител к вирусу. Этот метод является более точным, потому что в первом случае может пройти реакция с иными вирусами в организме.

После анализа крови на ВИЧ может получиться несколько вариантов результатов:

- Положительный;
- Отрицательный;
- Ложноположительный;
- Ложноотрицательный;
- Сомнительный.

Если иммуноферментный тест на ВИЧ положительный, значит у человека есть заболевание. Все остальные значения результатов исследования означают, что анализ необходимо повторить или переделать, так как результат неточный.

При слабом иммунном ответе результат выдается сомнительный. Это значит, что вирус есть, но его количество слишком мало, что может быть следствием плохой очистки прибора от предыдущего исследования. В этом случае тест проводится повторно. Только метод ИФА может показать причину смерти от ВИЧ, так как белок еще находится в организме. Сам вирус быстро погибает при гибели носителя, поэтому другие методы диагностики не работают.

Несмотря на высокую точность используемых методов, анализ может оказаться ошибочным из-за:

- Плохой дезинфекции медицинского инструмента;
- Ошибок персонала лаборатории;
- Неправильной подготовки пациента к сдаче крови;
- Неточная калибровка прибора и др.

Для правильного анализа важен правильно подобранный срок исследования.

Приборы, работающие с кровью, чувствительны к различным сопутствующим компонентам. Определенные вещества в крови могут привести к сбою аппаратуры и неправильному результату. Поэтому перед тем как делать анализ на ВИЧ, необходимо подготовиться.

### 3.2. Иммуноблоттинг

Иммуноблоттинг более сложный и дорогой способ диагностики, позволяющий подтвердить или опровергнуть результаты стандартного исследования. Нередко больные самостоятельно проходят диагностику СПИДа иммуноблотом. Этот анализ на ВИЧ выявляет не только антитела, но и обнаруживает специфические фракции, располагаемые в виде полос.

Диагностика иммуноблотом не является стандартной, ее используют только для уточнения, когда метод ИФА или экспресс-тест показали положительный результат. Подготовка к диагностированию проводится по стандартным правилам.

Кровь забирают из вены. Затем исследование проходит по инструкции:

- образец помещают в гель для электрофоретического разделения, в результате получают специфические белки, чувствительные к вирусу;
- на обработанный гель накладывается нитроцеллюлозная бумага;
- подготовленный образец помещают в аппарат для блоттинга.

Чтобы выявить специфические ферменты, необходимо правильно подготовить бумагу для лабораторного исследования. Для этого на нее наносят антитела и меченый радиоактивный конъюгат. Результат исследования оценивают визуально, исследуют построенные цепочки ферментов.

После проведенных манипуляций на бумаге остаются полосы. Они располагаются там, где произошла конъюгация, то есть нанесенный препарат вступил в реакцию с протеином вируса. Таким образом можно обнаружить части белка:

- из сердцевины ВИЧ-1 – p17, p24, p55;

- возбудителя ВИЧ-2 – р16, р26, р56.

Результаты иммуноблоттинга считаются положительными, если обнаружено 2 из 3 протеина ВИЧ-1 или ВИЧ-2. Так как часто иммуноблоттинг используют для подтверждения положительного ИФА, то реакцию проверяют на специфические протеины: gp120/160, gp41 или p24. Они являются частью трех основных генов СПИДа – gag, pol, and env. При первичной диагностике проверка проводится только на белки p25, gp110/120 и gp160, если она дала положительный результат, то проверку проводят на p24. Эта часть белка позволяет обнаружить вирус на ранней стадии.

Если у пациента нет линий, соответствующих белкам СПИДа, то результат оценивают как отрицательный. Это означает, что человек не заражен ВИЧ или он находится в «периоде окна». Последнее означает, что вирус мог попасть в организм, но еще не развиться в нем. Чтобы повысить точность диагностики, используются тест-системы:

- Рекомбинат-ВИЧ;
- Антиген;
- Пептоскрин.

После проверки на них результат засчитывается за отрицательный, если в образце не найдены белки gp120, gp160, Sp4.

Есть еще один вариант интерпретации – нейтральный или сомнительный результат. Он встречается у тех, кто вступил в сексуальный контакт с ВИЧ-инфицированным партнером. В их крови находят антитела к белкам gp120 и gp160. Также сомнительный ответ при блоттинге дают, когда инфекция протекает бессимптомно, то есть находится в спящем состоянии.

Сомнительный результат важно подвергнуть тщательной проверке. Для этого используют исследование сыворотки крови в динамике, то есть регулярные проверки методами иммуноблоттинга и ИФА в течение полугода. Также назначаются дополнительные обследования

### 3.3. Полимеразная цепная реакция

ПЦР на ВИЧ – один из самых информативных методов молекулярно-генетического диагностирования. Однако достоверность исследования оправдывает себя только в 80 из 100 случаев. Для исследования данного вида применяются различные типы биологических материалов. Среди них кровь, кроме этого может использоваться секрция из влагалища пациентки или семенная жидкость у мужчин. Показанием к проведению описываемого исследования, является дважды положительный ИФА.

В основе анализа на ВИЧ методом ПЦР лежит возможность нуклеиновой кислоты самостоятельно репродуцироваться. Живые клетки состоят из белка и кислот РНК и ДНК. Молекулы выступают в роли хранителей генетического кода. При низкой концентрации вирусных частиц (ВИЧ) в биоматериале, проба включает не целые цепочки ДНК, а только их составляющие, называемые нуклеотидами. Анализ позволяет выявить даже незначительные остатки клеток вируса. Именно этим фактом объясняется способность ПЦР демонстрировать результат на ранних сроках — спустя несколько недель после заражения ВИЧ.

Наиболее качественных результатов от проведения полимеразной цепной реакции стоит ждать при исследовании венозной крови. Пробу расщепляют с помощью оборудования. Затем фракции подвергаются ферментной обработке. Реактивные вещества, объединившись с частицами вирусной ДНК, дублируют ее. Число таких элементов возрастает по принципу цепочки, пока их наличие (не антител) в крови пациента не станет заметно лаборантам. По точно такому же принципу не работает ни один из существующих способов диагностики.

С помощью метода ПЦР можно заблаговременно узнать о развитии вируса в организме. Почему же его нельзя назвать популярным в области бесплатной медицины и делать повсеместно? Дело в том, что такой тест на ВИЧ весьма затратный и требует наличия следующих компонентов:

- матрица дезоксирибонуклеиновой кислоты, включающая отрезок ДНК, предназначенный для амплификации; два праймера (для каждого цепного отрезка);

- химически активный компонент полимераза для ускорения полимеризации вирусных частиц;
- дезоксирибонуклеозидтрифосфаты;
- частицы двухвалентного магния (заряженные);
- специальный раствор для создания благоприятных условий, обеспечивающий должный уровень кислотности, солевой концентрации, количества частиц магния в жидкости.

Относительно высокий показатель точности анализа объясняется его повышенной чувствительностью, которая стимулирует реакцию на антитела к прочим вирусам.

Анализ ПЦР на ВИЧ проводится в специальной лаборатории. Сам тест и трактовка результата не требует много времени: месяца и даже недели. Для взятия крови необходимо до 6 минут. В обычном случае специалисту, чтобы поставить диагноз и выдать заключение, потребуется не больше суток. Первые 8 часов происходит изучение крови, оставшееся время уходит на оформление. Результат можно будет забрать уже на следующий день после взятия пробы. Срок проведения экспресс-тестирования – 2 часа.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

ВИЧ - одна из важнейших и трагических проблем, возникших перед всем человечеством. В мире уже зарегистрированы многие миллионы инфицированных ВИЧ и более 200 тысяч уже погибло, каждые пять минут происходит заражение одного человека. ВИЧ - это сложнейшая научная проблема. До сих пор неизвестны даже теоретические подходы к решению такой задачи, как очистка генетического аппарата клеток от чужеродной информации. Без решения этой проблемы не будет полной победы над ВИЧ. А таких научных вопросов это заболевание поставило достаточно много. ВИЧ - это тяжелейшая экономическая проблема.

Содержание и лечение больных и инфицированных, разработка и производство диагностических и лечебных препаратов, проведение фундаментальных научных исследований, уже сейчас стоят миллиарды долларов. Весьма непроста и проблема защиты прав больных и инфицированных, их детей, родных и близких. Трудно решать и психосоциальные вопросы, возникшие в связи с этим заболеванием.

1. Я изучила общую характеристику ВИЧ – инфекции, способы передачи, строение вирусной частицы, патогенез и клинику, лечение.
2. Рассмотрела статистические данные по заболеваемости, в Российской Федерации, и по Красноярскому краю. Выяснила, что наибольшая заболеваемость ВИЧ – инфекцией на территории Российской Федерации приходилась на 2017 год, что на 12% больше чем зарегистрированных случаев в 2018 году. На территории Красноярского края город Канск за первые 2 месяца 2019 года показал наибольшие показатели среди других городов края на 5,94%. В повозрастных показателях по Красноярскому краю за 2018 год группу риска составлял возраст от 30-40 лет, что на 26,2% больше чем молодые люди в возрасте от 20-30 лет.
3. Изучила наиболее часто используемые методы диагностики ВИЧ – инфекции.

## СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. ВИЧ – инфекция [Электронный ресурс] - режим доступа <https://www.polismed.com/articles-vich-infekcija-simptomy-sposoby-inficirovaniya.html> .- Загл. с экрана.
2. Что такое СПИД и ВИЧ [Электронный ресурс] - режим доступа <http://newvrach.ru/chto-takoe-spид-i-vich.html> .- Загл. с экрана.
3. ВИЧ-инфекция – симптомы, причины, стадии, лечение и профилактика [Электронный ресурс] - режим доступа <https://medicina.dobro-est.com/vich-infektsiya-simptomyi-prichinyi-stadii-lechenie-i-profilaktika-vich.html> .- Загл. с экрана.
4. ВИЧ Медицинская википедия [Электронный ресурс] - режим доступа <http://medwiki.com/ВИЧ>.- Загл. с экрана.
5. Статистика ВИЧ [Электронный ресурс] - режим доступа <https://pop-science.ru/statistika-vich-2018> .- Загл. с экрана.
6. Об эпидемиологической ситуации в Красноярском крае за 2018 год [Электронный ресурс] - режим доступа <http://aids.krsn.ru/?p=2262>.- Загл. с экрана.
7. Анализ ИФА на ВИЧ [Электронный ресурс] - режим доступа <http://testanaliz.ru/ifa-na-vich> .- Загл. с экрана.
8. Анализ ПЦР на ВИЧ [Электронный ресурс] - режим доступа <https://kvd-moskva.ru/pcr-na-vich/> .- Загл. с экрана.
9. Как проводится иммуноблоттинг на ВИЧ [Электронный ресурс] - режим доступа <https://obanalizekrovi.ru/analiz/obshhij/kak-provoditsya-diagnostika-spida-immunoblotom-na-vich.html> .- Загл. с экрана.
10. История ВИЧ – инфекции [Электронный ресурс] - режим доступа <https://aids24.ru/vich-v-mire/istoriya-poyavleniya> .- Загл. с экрана.
11. Откуда появилась ВИЧ – инфекция [Электронный ресурс] - режим доступа <https://medsito.ru/zabolevanie/otkuda-poyavilsya-spид-ofitsialnaya-istoriya-bolezni> .- Загл. с экрана.

