

**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ  
МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ БАШКОРТОСТАН  
НАЦИОНАЛЬНОЕ НАУЧНОЕ ОБЩЕСТВО ИНФЕКЦИОНИСТОВ  
БАШКИРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ  
ЮЖНО-КАЗАХСТАНСКАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ  
БУХАРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ ИНСТИТУТ**

**ФУНДАМЕНТАЛЬНЫЕ И ПРАКТИЧЕСКИЕ ВОПРОСЫ  
ИММУНОЛОГИИ И ИНФЕКТОЛОГИИ**

*Сборник научных статей участников  
Международной научно-практической конференции*

*г. Уфа  
3-5 октября 2018 г.*

**Том 1**

**Уфа  
2018**

ОСОБЕННОСТИ БЕРЕМЕННОСТИ И РОДОВ У ПАЦИЕНТОВ С ВАРИКОЗНО РАСШИРЕННЫМИ ВЕНАМИ ТАЗА Джарилкасимова Г.Я., Дустова Н.К., Бабаджанова Г.С., Ихтиярова Г.А. (г. Бухара, Узбекистан)	<b>104</b>
ПРЕВЕНТИВНЫЕ СКРИНИНГИ-ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ДЛЯ НАСЕЛЕНИЯ В УСЛОВИЯХ ЭКОЛОГИЧЕСКОГО РИСКА Досыбаева Г.Н., Намазбаева З.И. (г. Шымкент, г. Караганда, Республика Казахстан)	<b>111</b>
ОЦЕНКА РЕЗИСТЕНТНОСТИ ВИЧ ПО МОЛЕКУЛЯРНО- ГЕНЕТИЧЕСКОМУ МЕТОДУ «СУХАЯ КАПЛЯ КРОВИ» Жумамуродов С.Т., Ёдгорова Н.Т. (г. Ташкент, Республика Узбекистан)	<b>124</b>
ОЦЕНКА КАЧЕСТВА ПЦР ИССЛЕДОВАНИЙ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МЕТОДА «СУХАЯ ПРОБИРКА» Жумамуродов С.Т., Ёдгорова Н.Т., Орынбаева З.Н. (г. Ташкент, Республика Узбекистан)	<b>130</b>
ИССЛЕДОВАНИЕ КОНЦЕНТРАЦИИ ГОРМОНОВ И ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ ЛИМФОЦИТОВ К КОРТИЗОЛУ В КРОВИ ПАЦИЕНТОВ С УВЕИТАМИ ГЕРПЕТИЧЕСКОЙ ЭТИОЛОГИИ И НА ФОНЕ РЕВМАТИЧЕСКОГО ЗАБОЛЕВАНИЯ Зайнутдинова Г.Х. (г. Уфа, Россия)	<b>138</b>
ИНФЕКЦИОННАЯ ЗАБОЛЕВАЕМОСТЬ В ПРАКТИКЕ СЕМЕЙНОГО ВРАЧА Иномзода Д.И., Ёдгорова М.Д., Носирова М.П. (г. Душанбе, Таджикистан)	<b>144</b>
ПРЕДРОДОВАЯ ПОДГОТОВКА ЖЕНЩИН С ВОСПАЛИТЕЛЬНЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ ГЕНИТАЛИЯ ВЫСОКОЙ ГРУППЫ ПЕРИНАТАЛЬНОГО РИСКА Исматова М.И., Ихтиярова Д.Ф., Хамдамов А.Б., Мирзоева М.Р. (г. Бухара, Узбекистан)	<b>148</b>
ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ СОВРЕМЕННЫХ МЕТОДОВ ЛЕЧЕНИЯ TORCH-ИНФЕКЦИИ Каримова Н.Н., Мирзоева М.Р., Тошева И.И., Азимов Ф.Р. (г. Бухара, Узбекистан)	<b>156</b>

## **ОЦЕНКА РЕЗИСТЕНТНОСТИ ВИЧ ПО МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОМУ МЕТОДУ «СУХАЯ КАПЛЯ КРОВИ»**

*Жумамуродов С.Т., Ёдгорова Н.Т.*

Ташкентская медицинская академия, г. Ташкент, Республика Узбекистан.

*Аннотация.* В настоящее время в Узбекистане ежегодно регистрируется до 4000 новых случаев ВИЧ. На сегодняшний день в республике проживает 30000 ВИЧ инфицированных. Если они не получали АРВТ, то это может быть причиной смерти от СПИДа. В данной статье оценивалась эффективность диагностического метода «сухая капля крови» с целью молекулярно-генетического исследования. Собранные пробы крови по методу «сухая капля крови» и традиционным способом исследовались по методу ПЦР, чувствительность нового метода - 98,07%.

*Ключевые слова:* ВИЧ, ПЦР, АРВТ, сухая капля крови, резистентность ВИЧ.

## **EVALUATION OF HIV RESISTANCE BY METHOD OF MOLECULAR-GENETIC "DRY DROP OF BLOOD"**

*Jumamurodov S.T., Yodgorova N.T.*

Tashkent Medical Academy, Tashkent, Uzbekistan.

*Annotation.* Currently, up to 4000 new HIV cases are registered annually in Uzbekistan. Today, there are 30000 HIV-infected people in the country. If they did not receive ARVT, this could be the cause of AIDS death. In this article, the efficiency of the diagnostic method "dry drop of blood" was evaluated for the purpose of molecular genetic research. The collected blood samples by the method of "dry drop of blood" and the traditional method were investigated by the PCR method, the sensitivity of the new method is 98,07%.

*Key words:* HIV, PCR, ARVT, dry blood drop, HIV resistance.

В настоящее время ВИЧ-инфекция в Узбекистане выявляется среди различных групп населения. Наблюдается рост ВИЧ-инфицированных женщин, а также случаи рождения детей от ВИЧ-инфицированных матерей [2, 4, 6, 9]. Большое значение приобретает подготовка высококвалифицированных медицинских кадров, способных обеспечить реализацию усилий в борьбе с ВИЧ/СПИДом [1, 5, 10]. В Узбекистане

ежегодно регистрируется до 4000 новых случаев ВИЧ. На сегодняшний день в республике проживает 30000 ВИЧ-инфицированных. Все эти люди могут погибнуть от СПИДа, если не получат необходимого лечения [11, 12].

В 2015 г. в Узбекистане 8000 пациентов получили антиретровирусную терапию [6]. Современная антиретровирусная терапия существенно продляет жизнь инфицированных ВИЧ и снижает риск передачи ВИЧ-инфекции от пациентов, получающих терапию [7, 8, 12].

Цель: Оценить диагностическую эффективность метода «сухой капли крови» для проведения молекулярно-генетического исследования за резистентностью ВИЧ на антивиральные препараты.

Материал и методы исследований: В Референс лаборатории НИИ Вирусологии Министерства здравоохранения Республики Узбекистан для исследования была взята кровь у 52 пациентов, которым был поставлен диагноз ВИЧ-инфекции в эпизоде ВИЧ. Для молекулярно-генетического анализа, направленного на выявление резистентности к ВИЧ-инфекции, в первую очередь использовали бумагу для сбора, хранения и транспортировки методом «сухой капли крови». В методе «Сухой капли крови» для взятия образцов крови использовалась специальная фильтровальная бумага «Whatman». Для получения капиллярного образца крови сперва протирается 70% спиртом безымянный палец левой руки и с помощью скарификатора получается до 70 мкл крови и наносится на фильтровальную бумагу. Фильтровальная бумага высушивается при комнатной температуре и помещается в специальный пакет zip/lock и отправляется в Референс лабораторию. Ссылочные лабораторные образцы, взятые из капилляров, приблизительно после 48 часов были обследованы методом ПЦР. Лист фильтровальной хроматографической бумаги типа «Whatman» или «Schleicher and Schuell Grade 903 Filter Paper».

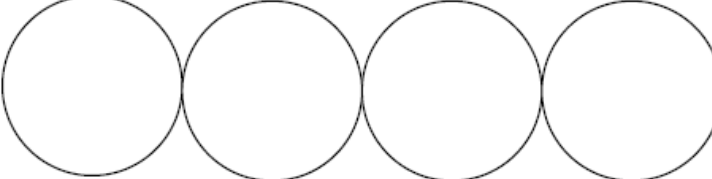
Ф.И.О.....
Дата рождения.....
Дата взятия .....


Рисунок 1. Лист фильтровальной хроматографической бумаги.

Исследования проводились в НИИ вирусологии Министерство здравоохранения Республики Узбекистан в г. Ташкенте. Образцы крови пациентов с ВИЧ-инфекцией исследовали альтернативным и традиционным

методами молекулярно-генетического контроля и анализа результатов. Традиционный метод собранных образцов крови от 52 пациентов выявил  $10^3$ - $10^6$  уровней вирусной нагрузки ВИЧ. Выделение ДНК, проводилась методом «сухой капли крови», помощи анализатора Rotor-Gene 1.8.17.5.

Результаты: Было обнаружено, что при использовании метода «Сухой капли крови», у 39 пациентов из 52 пациентов имеют высокую вирусную нагрузку, а 13 с низкой вирусной нагрузкой. У 13 пациентов в плазме нагрузка была на уровне  $10^3$ , из них 8 имели высокую вирусную нагрузку, а у пятерых была низкая вирусная нагрузка. Нагрузка на уровне  $10^4$  был у 24 пациентов, из них 18 имели высокую вирусную нагрузку, а 6 имели низкую вирусную нагрузку. Нагрузка на уровне  $10^5$  была у 13 пациентов, из них 11 имели высокую вирусную нагрузку, а 2 имели низкую вирусную нагрузку. Уровень  $10^6$  были у 2 пациентов и оба имели высокую вирусную нагрузку. Полная ДНК-экстракция «ДНК-сорб» была использована для набора амплификации «PZR komplet» для FRT. Была использована аналоговая серия Rotor-Gene 1.8.17.5 (таб. 1.).

Таблица 1.

Сравнительное распределение вирусной нагрузки

Степень нагрузки	Абс (плазма)	М	Абс (скк) +	М	абс (скк) -	М
$10^3$	13	25±6	8	61±6.7	5	39±6.7
$10^4$	24	46,2±6.9	18	75±6.0	6	25±6.0
$10^5$	13	25±6.02	11	85±4.9	2	15±4.9
$10^6$	2	3,8±2.6	2	100±0	0	0
	52	100	39		13	

Как видно из приведенной выше таблицы, проверка «ДНК-сорб-В» выявила у 52 пациентов (98,07%), из них 51 пациента имели одинаковую вирусную нагрузку, а у одного пациента низкий уровень одного вируса. Перед применением к каждой индивидуальной практике чувствительность и специфичность должна составлять 95-100% предложения. Кроме того, наша техника может быть логически рентабельна при аутоиммунных заболеваниях. Результаты применения данного метода на практике приведены в таблице 2.

При тестировании образцов крови у 52 ВИЧ положительных пациентов вирусная нагрузка составила больше 1000 МЕ/мл. Проведенный анализ согласно инструкции производителя, показал чувствительность 91,0%. При этом тестирование образцов сухой капли показало еще более низкий

результат 75%. Оба результата статистически значимо отличаются от референтных значений.

Таблица 2.

Распределение вирусной нагрузки после изменения инструкции

Степень нагрузка	Абс (плазма)	М	Абс (скк) +	Процент (плазма/скк-) 100%
$10^3$	13	25±6	12	92
$10^4$	24	46,2±6.9	24	100
$10^5$	13	25±6.02	13	100
$10^6$	2	3,8±2.6	2	100
	52	100	51	98,07

Нами разработаны несколько подходов к изменению стандартной методики и протестированы в эксперименте. Так, изменения коснулись применяемого набора для экстракции ДНК (Рибо-преп, ДНК Сорб В), растворов для получения элюата из «сухой капли» (Раствор для лизиса в сочетании с гемолитиком), время экспозиции сухой капли, объемы отмывающих растворов. При получении результатов чувствительности ниже 70%, эксперимент в целях экономии средств останавливали на начальном этапе, дальнейшие исследования поданной методике не проводили. В результате комбинирования различных подходов получены различные показатели. Использование Рибо-сорб и гемолитиков не дало результатов выше 50%, поэтому исследование этих подходов было остановлено на начальном этапе.

В тесте №1 была добавлена дополнительная экспозиция в течение 60 минут при комнатной температуре, что позволило повысить чувствительность с 75% до 98,07%, а использование набора ДНК Сорб В для экстракции ДНК из образцов позволило достигнуть чувствительности 98,07%, что значительно выше чувствительности при тестировании жидкого образца. Необходимо отметить, что специфичность всех методик в отношении тестирования ДНК ВИЧ в материале собранном от больных вирусными гепатитами В и С, с вирусными диареями и заболеваниями верхних дыхательных путей, а также здоровых людей по методу «сухая капля» составила 100%, т.е. ложноположительных результатов не выявлено.

Выводы: Молекулярно-генетический анализ клинического материала от ВИЧ-инфицированных больных, собранного традиционным методом у всех 52 пациентов была определено вирусная нагрузка от  $10^3$  до  $10^6$ , специфичность и чувствительность 100%.

Молекулярно-генетический анализ клинического материала от ВИЧ-инфицированных больных, собранного методом сухой капли крови показал, что 52 пациентов 39 (75%) имели высокую вирусную нагрузку, а у 13 (25%) из них была низкая вирусная нагрузка. Специфичность метода составила 100%, чувствительность 75%.

Молекулярно-генетическое исследование методом сухой капли крови дало специфичность 98.07%, когда использовалась вместо «Рибо-преб» тест-систем «ДНК-сорб В», которая используется в экспозиции ДНК.

При мониторинге за резистентностью ВИЧ на молекулярно-генетическом уровне с использованием метода сухой капли крови при повторном исследовании у 10 пациентов (19%) была вирусная нагрузка от  $10^4$  до  $10^6$ . Это свидетельствует о том, что ВИЧ устойчив к фенотипической АРВТ.

#### Список литературы

1. Даминова Т.А. Учебно-методическое пособие для студентов и врачей общей практики // ВИЧ-инфекция - 2013. – С. 78.

2. Барсукова Т.А. Изучение возможности использования метода "Сухой капли крови" для исследования на АЧС методом ПЦР / В мире научных открытий, материалы V Всероссийской студенческой научной конференции (с международным участием) - 2016. - С. 81-84.

3. Гавриш И.В. Принципы метода капиллярной сухой крови и его место в лаборатории ИФА СПИД центра // МЕДИЦИНА - 2012. №2, - С. 84-85.

4. Шахгильдян В.И., Сафонова А.П., Ядрихинская М.С. и др. Значение молекулярно-биологических методов в диагностике вторичных заболеваний у больных ВИЧ-инфекцией / Сборник научных трудов к 50-летию Центрального научно-исследовательского института эпидемиологии Роспотребнадзора - Москва, - 2013. - С. 320-329.

5. Шахгильдян В.И., Шипулина О.Ю., Домонова Э.А. и др. Значение молекулярно-биологических методов в диагностике вторичных заболеваний у больных ВИЧ-инфекцией / В книге: Молекулярная диагностика – 2014.

6. Ибадуллаева Н.С., Казакова Е.И., Маматкулов А.Р. Мутации резистентности Вич к антиретровирусным препаратам / Актуальные вопросы ВИЧ-инфекции, материалы Международной научно-практической конференции - 2014. - С. 46-47.

7. Иванова О.Г., Кондря А.В., Борисова О.В. Особенности структуры клинических форм и характеристика возбудителя у больных с ВИЧ-ассоциированным туберкулёзом легких / Актуальные вопросы ВИЧ-инфекции, материалы Международной научно-практической конференции - 2016. - С. 78-80.

8. Дмитриева Л.В., Гутникова М.Ю., Костюнина Л.М. и др. Использование современных тест-систем в диагностике ВИЧ-инфекции

(Случай из практики) / Актуальные вопросы ВИЧ-инфекции материалы Международной научно-практической конференции - 2016. - С. 245-247.

9. Кан Н.Г., Казакова Е.И., Латыпов Р.Р. Оценка и адаптация коммерчески доступных наборов для определения ДНК ВИЧ в материале «сухая капля крови» в Узбекистане / Актуальные вопросы ВИЧ-инфекции материалы Международной научно-практической конференции - 2014. - С. 52-53.

10. Казакова Е.И., Ибадуллаева Н.С., Маматкулов А.Р. Распространенность первичной резистентности Вич в Узбекистане / Актуальные вопросы ВИЧ-инфекции материалы Международной научно-практической конференции - 2014. - С. 46-47.

11. Воеводская Л.Ю., Золовкина А.Г., Григоричева Л.Г. Опыт использования ADVIA CENTAUR CP (SIEMENS) в диагностике вирусных гепатитов и ВИЧ-инфекции // Клиническая лабораторная диагностика - 2015. - Т.60. №9. - С. 84.

12. Хасанова Г.М., Шафеева Л.С. Организация социально-медицинской помощи ВИЧ-инфицированным / Актуальные проблемы социогуманитарного знания: сборник научных трудов – Уфа: РИЦ БашГУ - 2014. - С. 61-69.

13. Andrea H., Alexandra H., Claudia S.H. et al. Analysis of transmitted drug resistance and HIV-1 subtypes using dried serumspots of recently HIV-infected individuals in 2013 in Germany // J Int AIDS Soc. – 2014, - P. 17.

© Жумамуродов С.Т., Ёдгорова Н.Т., 2018.



