

На правах рукописи

ИНГАБИРЕ

Тьерри

КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПЕРВИЧНО ДИАГНОСТИРОВАННОЙ
ВИЧ-ИНФЕКЦИИ С УЧЕТОМ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ХАРАКТЕРИСТИКИ
ВИРУСА И ОПТИМИЗАЦИЯ АНТИРЕТРОВИРУСНОЙ ТЕРАПИИ

3.1.22 – инфекционные болезни

1.5.10 – вирусология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Санкт-Петербург – 2021

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации и Федеральном бюджетном учреждении науки «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Пастера» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека.

Научные руководители:

Эсауленко Елена Владимировна – доктор медицинских наук, профессор

Семёнов Александр Владимирович – доктор биологических наук

Официальные оппоненты:

Ковеленов Алексей Юрьевич – доктор медицинских наук, доцент, главный врач ГКУЗ Ленинградской области «Центр по профилактике и борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями».

Бобкова Марина Ридовна – доктор биологических наук, главный научный сотрудник, заведующая лабораторией вирусов лейкозов Института вирусологии им. Д.И. Ивановского ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России.

Ведущая организация – Федеральное государственное бюджетное военное образовательное учреждение высшего образования «Военно-медицинская академия имени С. М. Кирова» Министерства обороны Российской Федерации.

Защита диссертации состоится «___» _____2021 г. в ____ часов на заседании диссертационного Совета 21.2.050.02 при Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (197022, Санкт-Петербург, ул. Рентгена 12, корп. 44, зал заседаний Ученого Совета, ауд.12, 6 этаж).

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации по адресу: 197022, г. Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, 6–8 и на сайте <http://www.lspbgmu.ru/ru>.

Автореферат разослан «___» _____ 2021 г.

Ученый секретарь

диссертационного совета 21.2.050.02

доктор медицинских наук, профессор

Александров Альберт Леонидович

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

В Российской Федерации (РФ) эпидемиологическая ситуация по ВИЧ-инфекции остается тревожной, хотя в последние три года наблюдается приостановление темпов роста заболеваемости. На 31 декабря 2020 года зарегистрировано более 1,4 млн случаев ВИЧ-инфекции, из которых умерло 25,3% за весь период наблюдения. Снижение в 2020 году количества новых случаев связано вероятно с сокращением скрининга во время пандемии новой коронавирусной инфекции COVID-19 [Справка «ВИЧ-инфекция в Российской Федерации в 2020 г.», 2021].

В настоящее время применение комбинированной антиретровирусной терапии (АРВТ) является единственным способом эффективного подавления репликации вируса, гарантируя отсутствие прогрессирования заболевания до стадии синдрома приобретенного иммунодефицита (СПИД). Терапия значительно снижает риски передачи инфекции, а также появление мутантных форм вируса, ответственных за лекарственную резистентность [Рау А.К., 2014], приводя к быстрому снижению уровня РНК ВИЧ, улучшению функций иммунной системы [Hung Т.С., 2019], регрессу трудно поддающихся лечению оппортунистических инфекций, таких как саркома Капоши (СК), [Cattelan А. М., 2000] и прогрессированию мультифокальной лейкоэнцефалопатии (ПМЛ), и как следствие снижению смертности [Palella F.J.Jr., 1998].

Число случаев развития лекарственной устойчивости (ЛУ) постепенно растет в следствие увеличения числа пациентов, принимающих антиретровирусные препараты (АРВП). Хорошо известно, что сохранение репликации вируса в присутствии АРВП приводит к развитию устойчивости к противовирусным препаратам. У пациентов с опытом АРВТ устойчивая репликация связана с трудностями, связанными с лечением – недостаточными дозами применяемых препаратов, проблем лекарственного взаимодействия или с возникновением мутаций устойчивости. Однако, у пациентов без опыта предыдущей терапии, ЛУ может встречаться в результате их инфицирования мутантными вариантами ВИЧ-1 [Ладная Н.Н., 2014].

В РФ, в отличие от других стран, не проводят тест на резистентность ВИЧ к АРВП на этапах диагностики и планирования этиотропной терапии. Хотя, данный тест позволяет убедиться, что пациент не инфицирован устойчивым штаммом к препаратам (первичная резистентность), и может служить эталоном в случае последующей вирусологической неудачи, чтобы определить существующие мутации устойчивости [Лободанов С. А., 2015]. Исследования некоторых авторов указывают, что в последние годы наблюдается постепенный рост уровня первичной резистентности, обусловленной широкомасштабным использованием АРВП, и в 2019 году он уже достиг 5,5% [Кириленко А. А., 2019].

В данных условиях необходимо регулярно отслеживать уровень ЛУ ВИЧ (первичной, как и вторичной) в РФ, планировать и своевременно принимать меры по предотвращению циркуляции резистентных штаммов, а также оптимизировать стратегию назначения АРВТ для повышения ее эффективности [Грезина Л.А., 2017].

Степень разработанности темы

Высокая скорость генетической изменчивости ВИЧ-1, активная репликация вируса, в том числе сохраняющаяся на фоне АРВТ, приводят к развитию лекарственной устойчивости. Появление той или другой мутации резистентности зависит от фармакологических факторов (субоптимальные концентрации АРВП в плазме крови, низкая приверженность пациентов к приему препаратов или лекарственные взаимодействия), эффективности противовирусной терапии и генетического барьера вируса по отношению к различным АРВП, т. е. от количества вирусных мутаций. Устойчивость ВИЧ потенциально развивается ко всем АРВП и может возникнуть уже через 2-4 недели после начала терапии, снижая эффективность и приводя к росту смертности от ВИЧ-ассоциированных заболеваний [Методические рекомендации «Надзор за распространением штаммов ВИЧ, резистентных к антиретровирусным препаратам», 2014]

В условиях увеличения охвата терапией представляется чрезвычайно актуальным и перспективным проведение постоянно действующего мониторинга за появлением мутантных штаммов ВИЧ, обладающих первичной ЛУ к препаратам ВААРТ для выбора наиболее эффективных схем АРВТ. В отдельных лабораториях существует подобный опыт – лаборатория иммунологии и вирусологии ВИЧ-инфекции Санкт-Петербургского НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера проводит исследования на отдельных территориях Северо-Западного федерального округа. Однако, в реальной клинической практике отсутствует обязательное определение мутантных штаммов перед стартом терапии и нормативные документы. Все вышесказанное определяет актуальность проблемы, что позволило сформулировать цель и задачи исследования.

Цель исследования

Оптимизировать подбор терапевтических схем антиретровирусной терапии у первично диагностированных пациентов с ВИЧ-инфекцией на основе результатов клинико-лабораторного обследования и молекулярно-генетической характеристики вируса.

Задачи исследования

1. Продемонстрировать трудности и несвоевременность диагностики ВИЧ-инфекции на этапах медико-санитарной помощи.

2. Изучить клиническое течение ВИЧ-инфекции с учетом данных лабораторного обследования у первично диагностированных пациентов.
3. Определить у первично диагностированных пациентов спектр и встречаемость мутаций ВИЧ-1, приводящих к развитию резистентности к препаратам антиретровирусной терапии.
4. Оценить у пациентов приверженность и эффективность антиретровирусной терапии, подобранной с учетом молекулярно-генетической характеристики вируса.
5. Обосновать необходимость разработки алгоритма назначения антиретровирусной терапии для повышения эффективности и профилактики развития вторичной резистентности.

Научная новизна

Впервые получены данные о распространенности мутаций ВИЧ-1, циркулирующего в Санкт-Петербурге в период 2018-2021гг. у первично выявленных пациентов с диагнозом ВИЧ-инфекция.

Определены встречаемость и спектр мутаций, приводящих к первичной резистентности к антиретровирусным препаратам, а также их клиническая значимость в эффективности терапии при разной степени приверженности пациентов к ней.

Оценена распространённость ВИЧ-протективных аллелей у первично инфицированных пациентов на территории Санкт-Петербурга по сравнению с неинфицированной ВИЧ популяцией.

Теоретическая и практическая значимость работы

Полученные данные о распространенности мутаций, о молекулярно-генетических особенностях и о структуре лекарственной чувствительности штаммов ВИЧ у первично диагностированных пациентов расширяют представление о правилах назначения АРВТ.

Учет, как первичной, так и вторичной резистентности ВИЧ, позволяет оптимизировать назначение АРВТ путем подбора оптимальной схемы лечения для каждого больного.

Обоснована необходимость разработки алгоритма выявления рисков, позволяющего с высокой точностью определять вероятность развития резистентности для пациентов, получающих АРВТ, и прогнозировать на этапе старта терапии для повышения эффективности и профилактики развития вторичной резистентности.

Основные положения и результаты исследования используются в практической работе Государственного казенного учреждения здравоохранения Ленинградской области «Центр по профилактике и борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями», в учебный процесс кафедры микробиологии, иммунологии и инфекционных болезней федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования

«Новгородский государственный университет имени Ярослава Мудрого» и в педагогический процесс кафедры инфекционных болезней взрослых и эпидемиологии ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Минздрава России.

Методология и методы исследования

В диссертационной работе применена общенаучная методология с использованием системного подхода, основанного на методах доказательной медицины.

Для достижения поставленной цели и решения соответствующих задач применены клинические, лабораторные, иммунологические, молекулярно-биологические, инструментальные, статистические методы оценки состояния здоровья пациента.

Основные положения, выносимые на защиту

1. У первично диагностированных пациентов с ВИЧ-инфекцией доля госпитализированных составила 90,2% %, а наблюдавшихся амбулаторно – 9,8%. До поступления в инфекционный стационар ВИЧ-инфекция определена только у 28,4% пациентов. Наибольшее число пациентов (86,2%) с ВИЧ-инфекцией первично диагностируется на поздней стадии заболевания. Наличие коморбидности у ВИЧ-инфицированных пациентов и многообразии клинических проявлений этого заболевания приводят к длительному диагностическому процессу, ошибочным диагнозам с поздней диагностикой.
2. У обследованных пациентов доминирует инфицирование ВИЧ субтипом А6 и составляет 97%, редко определяется ВИЧ субтипа В – 2%, а также рекомбинантная форма CRF03_AB – лишь 1%.
3. Встречаемость первичной резистентности составляет 11%, что служит обоснованием обязательного тестирования на ЛУ всех первично-выявленным пациентам с ВИЧ-инфекцией перед назначением АРВТ.
4. В настоящем исследовании не установлена взаимосвязь между наличием различных мутаций ВИЧ в популяции с уровнем показателей, характеризующих тяжесть течения заболевания (вирусная нагрузка, количество CD4+). Наиболее часто встречающаяся-А62V, характерна для образцов с субтипом А6.

Степень достоверности и апробация результатов исследования

Достоверность полученных результатов обусловлена достаточным объемом выполненных наблюдений, использованием современных методов исследования: клинико-лабораторных,

инструментальных, серологических, иммунологических, молекулярно-биологических и молекулярно-генетических.

Основные результаты диссертационного исследования доложены на АНО "БНИМЦ" Школа-семинаре «Избранные вопросы хронических вирусных инфекций в клинической практике» (Санкт-Петербург, 2020 г.), XX Российско-Итальянской конференции «Актуальные вопросы социально-значимых инфекционных и паразитарных заболеваний» (Великий Новгород, 2020 г.), XII Ежегодном Всероссийском интернет-конгрессе по инфекционным болезням с международным участием «Инфекционные болезни в современном мире: диагностика, лечение и профилактика». Награжден Дипломом 2 степени как победитель конкурса молодых ученых, прошедшего в рамках конгресса (Москва, 2020 г.), XIII Всероссийской научно-практической виртуальной конференции с международным участием «Здоровье человека в XXI веке. Качество жизни» (Казань, 2021 г.), Международной конференции «Эпидемиологическое благополучие» (Москва, 2021 г.), Национальном конгрессе с международным участием «Здоровые дети — будущее страны» (Санкт-Петербург, 2019, 2021 г.).

По теме диссертационного исследования опубликовано 7 печатных работ, в том числе 3 в журналах (1 – Scopus), входящих в перечень рекомендованных Высшей Аттестационной Комиссией при Министерстве науки и высшего образования Российской Федерации.

Личный вклад автора

Автор совместно с научными руководителями провел определение темы исследования, целей и задач. Автором самостоятельно проведен подбор и анализ отечественных и зарубежных литературных источников по изучаемой проблеме. Автор самостоятельно проводил клиническое обследование и наблюдение пациентов, принимал участие в иммунологическом обследовании пациентов, провел ретроспективный анализ историй болезней, амбулаторных карт пациентов. Автор полностью сформировал базу данных, выполнил статистическую и графическую обработку материала, обобщил полученные результаты.

Структура и объем диссертации

Диссертационная работа изложена на 110 страницах компьютерного набора, состоит из введения, 4 глав (обзора литературы, описания материалов и методов, двух глав результатов собственных исследований), заключения, выводов, практических рекомендаций, перспектив дальнейшей разработки темы, списка литературы, включающего 22 отечественных и 148 зарубежных авторов. Работа иллюстрирована 23 таблицами и 2 рисунками.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования

Исследование проведено в период с 2018 по 2021 гг. на кафедре инфекционных болезней взрослых и эпидемиологии ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский Государственный Педиатрический Медицинский Университет» Минздрава России, клиническая база кафедры – СПб ГБУЗ «Клиническая инфекционная больница имени С. П. Боткина», СПб ГБУЗ «Городская поликлиника № 107» и ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера

С целью изучения особенностей течения ВИЧ-инфекции, с учетом мутаций ВИЧ-1 проведено обследование 102 впервые диагностированных пациентов с ВИЧ-инфекцией в возрасте 22 – 81 года (средний возраст 41 ± 9 лет), 68,6% (n=70) женщин и 31,4% (n=32) мужчин, (p=0,056), не получавших ранее антиретровирусную терапию.

Комплексное клиничко-лабораторное обследование пациентов включало сбор жалоб и анамнез заболевания, клинический осмотр по органам и системам, выполнение клинического и биохимического анализа крови. Диагноз ВИЧ-инфекции был подтвержден при лабораторном обследовании методами ИФА и иммуноблота (ИБ) с определением процентного и абсолютного числа иммунных клеток CD4+ методом проточной цитометрии.

РНК ВИЧ в плазме крови (качественно и количественно) проведено методом обратной транскрипции и полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени с помощью тест-системы АмплиСенс-ВИЧ-Монитор-FRT» (ЦНИИ Эпидемиологии, Россия). Всем пациентам с РНК ВИЧ >500 копий /мл плазмы определены мутации, ответственные за лекарственную устойчивость ВИЧ методом секвенирования с использованием наборов набора «АмплиСенс-HIV-Resist-Seq» (ЦНИИ Эпидемиологии, Россия) при помощи автоматического секвенатора Applied Biosystems 3500 Genetic Analyzer (Applied Biosystems, США) и генотип вируса. Определение ВИЧ-протективных аллелей CCR5del32 и CCR2V64I проводили методом пиросеквенирования.

Проведены молекулярно-биологические исследования в плазме крови и в спинномозговой жидкости (СМЖ) (качественный и количественный методы ПЦР) на цитомегаловирус (ЦМВ), вирус Эпштейна-Барр (ВЭБ), вирус простого герпеса (ВПГ), токсоплазму, криптококк, микобактерию туберкулеза. По клиническим показаниям пациентам проводилось исследование на микроплазменный, орнитозный, хламидийный, листериозный антиген. Также был проведен скрининг других инфекционных заболеваний, который включал определение маркеров вирусных гепатитов В и С.

При наличии показаний пациентам проводилось инструментальное обследование: ультразвуковое исследование (УЗИ) органов брюшной полости, рентгенография органов грудной клетки и придаточных пазух носа; электрокардиография (ЭКГ), фиброгастроуденоскопия

(ФГДС), компьютерная томография (КТ) органов грудной клетки и брюшной полости и магнитно-резонансная томография (МРТ) головного мозга и консультации специалистов (невролог, офтальмолог, фтизиатр, гинеколог, дерматолог и др.).

При статистической обработке данных использовали программы STATISTICA 10 и IBM SPSS Statistics 21.0 for Windows. Непрерывные переменные с нормальным распределением были представлены как средние величины ($M \pm SD$), а когда распределение значений не было нормальным, уровни показателей описывались как «медиана (минимум - максимум)». Для всех статистических тестов значение $p < 0,05$ считалось статистически значимым.

Протокол исследования и форма информированного согласия были рассмотрены и одобрены Этическим Комитетом при ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Минздрава России.

РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Анализ клинических и лабораторных показателей у обследованных больных осуществлялся с учетом стадии ВИЧ-инфекции с использованием Российской классификации ВИЧ-инфекции В.И. Покровского (2001 г.), и классификации CDC (1993 г.)

На до госпитального этапа диагноз ВИЧ установлен у 40% обследованных пациентов. Среди них 30 больных (29,4%) были инфицированы парентерально при внутривенном введении наркотических веществ и 72 (70,6%) половым путем при гетеро и гомосексуальных контактах. Сроки заражения ВИЧ варьировали от нескольких месяцев до 19 лет (средний срок: $8,2 \pm 5,2$ лет). Выявлено что, 15,7% пациентов ($n=16$) заразились ВИЧ меньше года назад, у 7,8% ($n=8$) сроки инфицирования составили от 2 до 3 лет, у 4,9% ($n=5$) – сроки инфицирования находились в диапазоне от 4 до 5 лет, у 10,8% ($n=11$) – от 6 до 7, у 8,8% ($n=9$) – от 8 до 9 лет и 52% ($n=53$) инфицировались более 10 лет назад.

У 6,9% пациентов ($n=7$) ВИЧ-инфекция впервые диагностирована в острой стадии заболевания (стадия 2Б и 2В) и 6,9% ($n=7$) в субклинической стадии (стадия 3). У остальных ВИЧ-инфекция выявлена на стадиях вторичных заболеваний: у 23,5% пациентов ($n=20$) в стадии 4А, 8,8% ($n=9$) – в стадии 4Б, у 51,9% ($n=54$) – в стадии 4В и у 2% ($n=2$) ВИЧ-инфекция впервые выявлена в терминальной стадии (стадия 5).

При распределении обследованных по классификации CDC – 14,7% пациентов ($n=15$) относились к клинической стадии А, 43,1% ($n=44$) – к стадии В и 42,2% ($n=43$) – к стадии С. Установлено что 6,9% пациентов ($n=7$) соответствовали иммунологической категории 1; 19,6% ($n=20$) – категории 2 и 73,5% ($n=75$) – категории 3.

Таблица 1 – Клинические проявления ВИЧ-инфекции (n=102)

Острая стадия (n=7)	Субклиническая стадия (n=7)	Стадия вторичных заболеваний (n=88)
<ul style="list-style-type: none"> • Мононуклеозоподобный синдром (n=4) • Герпетическая инфекция (n=1) • Кандидоз полости рта (n=1) • Кандидоз пищевода (n=1) 	<ul style="list-style-type: none"> • Персистирующая генерализованная лимфаденопатия (n=2) • Протекала бессимптомно (n=5) 	<ul style="list-style-type: none"> • Орофарингеальный кандидоз (n=55) • Микоз пищевода (n=2) • Пневмоцистная пневмония (n=15) • Криптококковая инфекция (n=4) • ЦМВ-инфекция (n=9) • Инфекция, вызванная вирусом простого герпеса (n=5) • Туберкулёз (n=12) • ПМЛ (n=7) • Энцефалопатия (n=12) • Токсоплазмоз ГМ (n=8) • Кахексия (n=9) • Себорейный дерматит (n=1)

У обследованных пациентов, сопутствующая патология была выявлена в 88,2% случаев (n=90). Доминировали вирусные гепатиты (57,8%, n=59), из них ХВГ С определен в 89,8% (n=53). У 52,5% пациентов (n=31) хронический вирусный гепатит протекал без специфических симптомов. При этом 27,1% (n=16) периодически жаловались на боли и тяжесть в правом подреберье, слабость, повышенная утомляемость. У 45,8% пациентов (n=27) отмечались признаки холецисто-панкреатита. Лишь у 3,4% (n=2) отмечалась иктеричность склер и кожных покровов, и доля пациентов с гепатоспленальным синдромом составила 66,1% (n=39). Следует отметить, что несколько клинических синдромов встречались одновременно у одних и тех же пациентов с коинфекцией ВИЧ+ХВГ.

Наблюдались 6,9% пациентов (n=7) с тремя коинфекциями (ВИЧ+ВГ+ТБ). Чаще всего пациенты с коинфекцией ВИЧ+ХВГ соответствовали 4В стадии. Больные с коинфекцией распределялись следующим образом: 2Б стадия (1,9%), 2В (3,8%), бессимптомная (3 стадия): 7,7%, 4А (34,7%), 4Б (11,5%) и терминальная стадия: 1,9%. В процессе наблюдения

коинфицированных пациентов выявлено, что клинические проявления были более выраженными у пациентов с тремя коинфекциями (ВИЧ+ХВГ+ТБ) по сравнению с ВИЧ-инфицированными больными с ХВГ.

Таблица 2 – Частота сопутствующих заболеваний

Сопутствующие заболевания	Число пациентов
Хронические гепатиты	59
Болезни желчевыводящих путей и поджелудочной железы	47
Инфекционные болезни	18
Болезни органов дыхания	15
Болезни системы кровообращения	11
Болезни мочеполовой системы	10
Болезни эндокринной системы, расстройств питания и нарушения обмена веществ	1

Диагноз ВГС был подтвержден обнаружением антител к ВГС и лишь у одного пациента проведено обследование на РНК ВГС в сыворотке крови методом ПЦР. Широкое распространение ко-инфицированных больных (ВИЧ+ВГ, ВИЧ+ВГ+ТБ) связано с различными социальными факторами, в том числе употреблением наркотических веществ (19,6%), и алкоголя (10,8%), также пребывание в местах лишения свободы (6,9%). Доля неработающих лиц составила 63,7%.

У обследованных пациентов выявлено прогрессирование заболевания вплоть до терминальной стадии. Зафиксирован летальный исход у 10,8% пациентов (n=11) относившиеся к клиническим стадиям 4В и 5 (9 и 2 пациентов соответственно).

Данные результаты нашего исследования свидетельствуют о длительном диагностическом процессе, приводящем к ошибочным диагнозам с поздней диагностикой среди пациентов с ВИЧ-инфекцией.

В приемный покой «КИБ им. С. П. Боткина» 53% (n=54) пациентов поступили по направлению поликлиники, из них с уже установленным диагнозом ВИЧ-инфекции – 8,8% (n=9) пациентов, остальные 44,2% (n=45) – с диагнозами: менингоэнцефалит неуточненной этиологии (n=2), внебольничная пневмония (n=4), ОРВИ (n=18), вирусные гепатиты (n=8), острый гастроэнтероколит (n=8), острый менингит (n=5).

Из соматических стационаров при выявлении ВИЧ переведено 19,6 % (n=20) пациентов, куда они были госпитализированы с диагнозами: хронические вирусные гепатиты (n=5), ОРВИ,

пневмония (n=9), энцефалит, менингоэнцефалит (n=4), ранний нейросифилис (n=1), хронический пиелонефрит (n=1).

По направлению врача скорой медицинской помощи поступили ((10,8%, n=11) с диагнозами: острый менингит (n=3), ОРВИ, внебольничная пневмония (n=5), острый гастроэнтероколит (n=2), острый менингит (n=1). Остальные обратились самостоятельно (6,8%, n=7). Причинами обращения служили: длительная лихорадка неясного генеза, полилимфаденопатия, потеря массы тела, общая слабость, головокружение, кандидоз полости рта, и др.

При поступлении в инфекционный стационар на основании клинико-эпидемиологических данных, врачами приемного покоя диагноз ВИЧ-инфекции был установлен еще у 20,6% (n = 21) пациентов.

Таким образом, среди госпитализированных пациентов, 49% (n = 50) пациентов были госпитализированы в профильное отделение с диагнозом ВИЧ и 41,2% (n = 42) - были направлены на различные отделения с диагнозами: хронические вирусные гепатиты, ОРВИ, пневмония, энцефалит, менингоэнцефалит, острый тонзиллит. У 9,8% наблюдавшихся амбулаторно, ВИЧ-инфекция часто диагностировалась случайно при сдаче анализов.

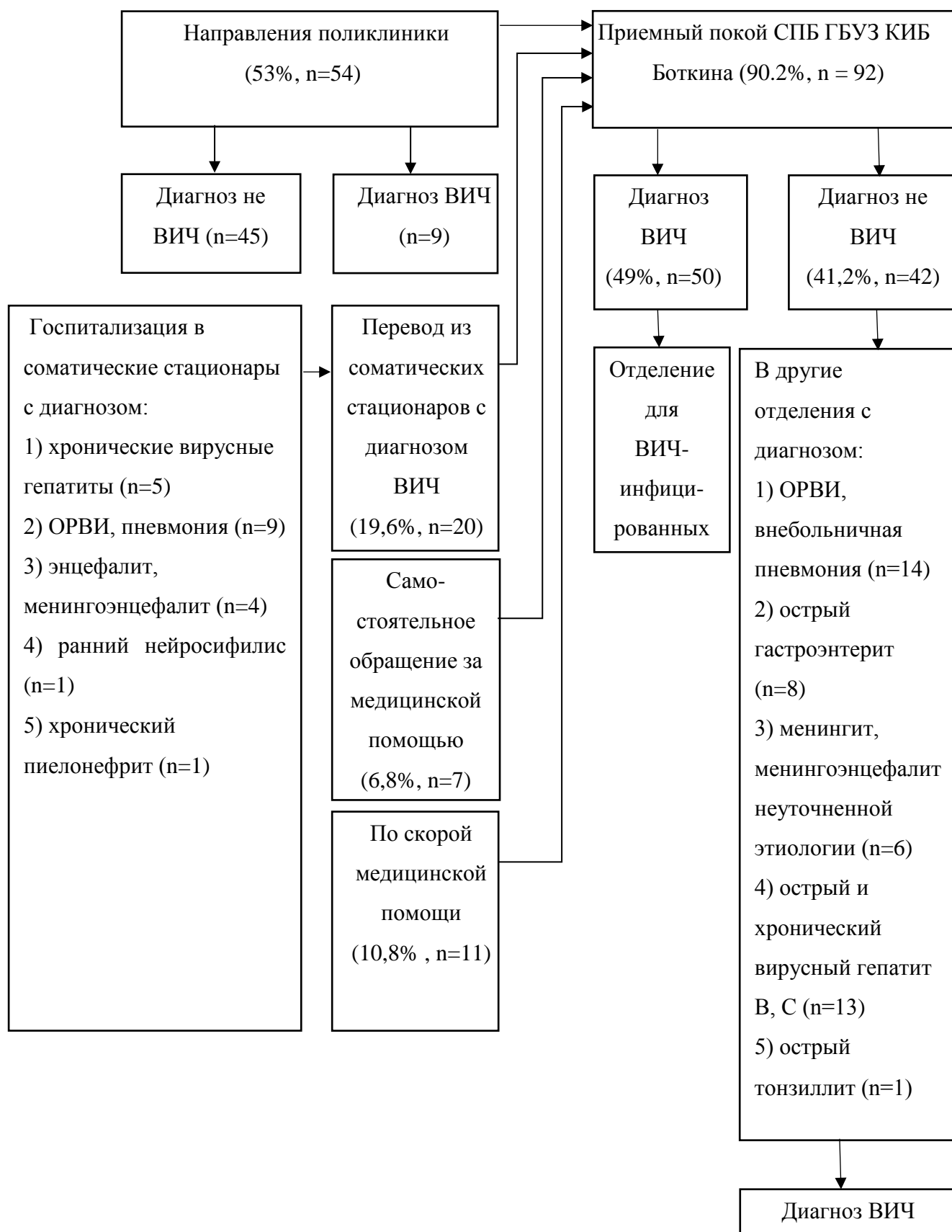


Рисунок 1 – Маршрутизация госпитализированных пациентов с впервые выявленной ВИЧ-инфекции

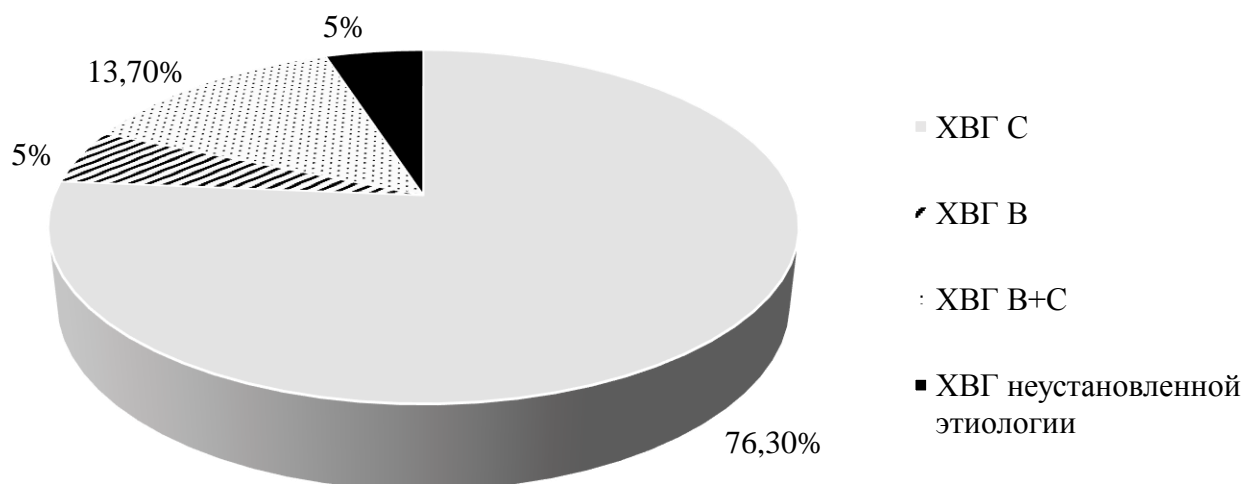


Рисунок 2 – Этиологическая структура вирусного гепатита у обследованных пациентов (n=102)

Генотип ВИЧ-1 был определен у 100 обследованных пациентов с уровнем РНК ВИЧ более 500 копий /мл плазмы согласно критериям включения в исследование. По результатам анализа подтип А6 доминирует и составляет 97% случаев выявления. На втором месте остался подтип В и составлял 2%, также 1% был связан с рекомбинантной формой CRF_03AB, вирусы 67% пациентов (n=67), заражавшихся половым путем при гетеросексуальных контактах, относились к генотипу А6

Для изучения характера, спектра и частоты распространенности мутаций ВИЧ-1 у обследованных пациентов, приводящих к развитию резистентности к АРВП, было проведено секвенирование вируса, выделенного из плазмы у 100 пациентов, где чаще всего обнаружили мутации А62V (4%, n=4), К70R/Е (2%, n=2), Е138А (2%, n=2) и V106I/М (2%, n=2). Мутации в других сайтах встречались в единичных случаях. Все случаи выявленных мутаций ВИЧ соответствовали вирусам подтипа ВИЧ-1 А6 (IDU-А).

Достоверная ассоциация мутаций в сайтах 62 и 179 гена ОТ не была выявлена ($p=0,1554$, точный тест Фишера). Мутация А62V встречалась изолированно у двух пациентов, инфицированных 1 – гетеросексуальным путем и 1 – парентеральным путем, также в сочетании с V179D у гомосексуала. Мутацию А62V имели всего 4 из 11 пациентов, а V179D - 1 из 11.

Мутации V106I/М и К70R/Е были обнаружены у больных с гетеросексуальным путем инфицирования ($p=0.2482$, тест χ^2). Согласно различным данным литературы, среды всех выявленных мутаций в нашем исследовании, M184V, T69T_I, L74I, V106I, G190S имеют большую клиническую значимость.

Среди обнаруженных мутаций устойчивости к нуклеозидным ингибиторам обратной транскриптазы (НИОТ), А62V является дополнительной мутацией и обычно встречается в сочетании с Q151M. D67N, K70R (E), K219Q относятся к классическим мутациям тимидиновых аналогов и M18V, L74I возникают в отсутствии аналогов тимидина. Наличие ревертанта T215L предполагает, присутствие у пациента T215Y / F как не основного варианта. Некоторые пациенты с ревертантами T215, ранее не принимавшие АРВП, могут иметь повышенный риск развития вирусологической неудачи при схемах первой линии.

Среди обнаруженных мутаций устойчивости к нуклеозидным ингибиторам обратной транскриптазы (ННИОТ) резистентности, V106I(M), G190S относятся к первичным мутациям устойчивости и V179D к малым мутациям устойчивости к ННИОТ.

Таблица 3 – Выявленные мутации с АРВП, к которым есть устойчивость (n=100)

Мутация	%	Комментарий	АРВП, к которым есть устойчивость
Мутации устойчивости к ИП			
M46I	1%	Единственный случай, совместно с МУ к ННИОТ E138A	ATV, LPV
Мутации устойчивости к НИОТ			
A62V	4%	Не вызывает МУ сама по себе	
T69T_I	1%		ABC, AZT, TDF, FTC, DDI, D4T, 3TC
T215L	1%	Обе у одного пациента	ABC, AZT, TDF
K219Q	1%		
K70R(E)	2%	У одного пациента, совместно с МУ к ННИОТ V106M, G190S. Множественная устойчивость	AZT
D67N	1%		ABC, AZT, TDF, FTC, 3TC
L74I	1%		
M184V	1%		
Мутации устойчивости к ННИОТ			
E138A	2%		ETR, RPV
V179D	1%		EFV, ETR, NVP, RPV
V106I(M)	2%	У пациента с МУ к НИОТ D67N, K70E, L74I, M184V(множественная устойчивость)	DOR, ETR, NVP, RPV
G190S	1%		DOR, ETR, NVP, RPV, EFV

Пациенты хотя бы с одной мутацией устойчивости составили 11%. У 10% пациентов (n=10) были выявлены мутации, ассоциированные с устойчивостью хотя бы к одному АРВ-препарату из любого класса первой линии терапии. Мутации устойчивости к ННИОТ были обнаружены у 5% пациентов (n=5). Мутации устойчивости к НИОТ и ИП встречались реже и были определены у 4% (n=4) и 1% (n=1) пациентов, соответственно. У 2% пациентов (n=2) выявлены мутации, ассоциированные с устойчивостью к нескольким классам АРВ-препаратов. Доля пациентов полностью не чувствительных к НИОТ и ННИОТ составила по 1% для каждой группы.

Результаты проведённой оценки частоты возникновения мутаций, ассоциированных с устойчивостью к АРВП показали, что чаще всего ЛУ присутствовала к препаратам класса ННИОТ — у 5 пациентов (5%) к этравирину (ETV), у 5% к рилпивирину (RPV), у 3 (3%) к невирапину (NVP) и у 2 пациента (2%) к эфавирензу (EFV) и 2% к доравирину (DOR).

Меньшая частота возникновения резистентности была выявлена к препаратам класса НИОТ — у 4(4%) обследованных пациентов возникла ЛУ к зидовудину (AZT), у 3% к абакавиру (ABC), у 3% к тенофовиру (TDF), у 2% к эмтрицитабину (FTC), 1% к ламивудину (3TC), 1% к диданозину (DDI) и 1% к ставудину (D4T). Реже устойчивость была обнаружена к препаратам класса ИП. Так, ЛУ была выявлена к двумя препаратам из изученного перечня класса ИП — атазанавиру (ATV) и лопинавиру (LPV) у одного пациента.

Данная встречаемость первичной резистентности ВИЧ служит обоснованием обязательного тестирования на ЛУ всех впервые выявленным пациентам перед началом лечения. Согласно рекомендациям Всемирной Организации Здравоохранения (ВОЗ), данное исследование следует проводить в регионах, где уровень показателя первичной ЛУ ВИЧ превышает 5%.

При сравнении уровней лабораторных показателей, у пациентов, имеющих и не имеющих отдельные мутации в гене обратной транскриптазы (A62V, K70R(E), E138A и V106I(M)), наблюдения были статистически не достоверны ($p > 0,05$). Это обозначает что, не существует статистически значимых различий между лабораторными показателями (вирусная нагрузка, количества и процент CD4+ клеток,) в зависимости от наличия выявленных мутаций. Однако все образцы вируса с наиболее выявленной мутацией A62V относились к генотипу A6.

Таблица 4 – Сравнение уровней лабораторных показателей в зависимости от наличия мутаций у пациентов

Показатель		Мутация Отсутствует	Мутация присутствует	Достоверность отличий (p)
A62V				
CD4+	клетки /мкл	161,2 ± 50,2 (N=96)	64 ±29 (N=4)	0,423512
	%	20 ± 7,3 (N=96)	5,3 ± 2,1 (N=4)	0,170052
ВН, копий/мл		2641405,3±1069690,7 (N=96)	635969,3±251396,2 (N=4)	0,744861
K70R(E)				
CD4+	клетки /мкл	182,2 (176,3-188,1) (N=98)	17,4 (8,6-26,2) (N=2)	1,000000
	%	21,5 (12,8-30,2) (N=98)	4,7 (2-7,4) (N=2)	0,980357
ВН, копий/мл		5607647 (1215294-10000000) (N=98)	488239,5 (171108-8055371) (N=2)	0,467647
E138A				
CD4+	клетки/мкл	182,2 (176,3-188,1) (N=98)	361,4 (142,7-580) (N=2)	0,142938
	%	21,5 (12,8 – 30,2) (N=98)	37,6(34,2-41) (N=2)	0,075869
ВН, копий/мл		2161990 (1589596-2734384) (N=98)	792981.5 (23520-1562443) (N=2)	0,631143
V106I(M)				
CD4+	клетки/мкл	182,2 (176,3-188,1) (N=98)	9(8,6-9,4) (N=2)	0,066617
	%	21,5 (12,8-30,2) (N=98)	1,6 (1,2-2) (N=2)	0,284168
ВН, копий/мл		2161990 (1589596-2734384) (N=98)	1158043,5 (761629-1554458) (N=2)	0,482872

При оценке распространенности ВИЧ-протективных аллелей среди обследованных пациентов по обоим протективным вариантам изучаемых генов (CCR5/CCR5del32 и CCR2/CCR2V64I), не обнаружено ни одного протективного аллеля.

ВЫВОДЫ

1. По данным клинико-лабораторного наблюдения, наибольшее число пациентов (86,2%) с ВИЧ-инфекцией первично выявляются на стадии вторичных заболеваний с различными коморбидными состояниями, среди которых доминируют вирусные гепатиты (57,8%, n=59), чаще встречается коинфекция ВИЧ и ХВГ С и составляет 89,8% (n=53).

2. Доминирующим геновариантом ВИЧ-1 среди первично выявленных на территории Санкт-Петербурга пациентов является субтип А6 (97%), далее генотипы В (2%) и CRF03_AB (1%).

3. По результатам данного исследования не установлена достоверная взаимосвязь между наличием мутаций, иммунологическими показателями (вирусная нагрузка, CD4+ клетки) и клинической стадией ВИЧ-инфекции. Мутация А62V характерна для образцов с субтипом А6.

4. Уровень распространения мутаций первичной лекарственной устойчивости среди обследованных пациентов составляет 11%, в том числе с множественной лекарственной устойчивостью – 2%.

5. Выявление устойчивых вирусов перед назначением первой линии антиретровирусной терапии позволяет оптимизировать подбор терапевтических схем и назначать лечение с самого начала для повышения его эффективности и профилактики вторичной резистентности.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Установленное в данном исследовании, первичное выявление ВИЧ-инфекции на поздних стадиях свидетельствует о необходимости широкого внедрения экспресс-тестов на ВИЧ-инфекцию для улучшения ранней диагностики заболевания.

2. Учитывая быстрый рост эпидемии ВИЧ-инфекции и увеличение распространенности лекарственной устойчивости ВИЧ в Санкт-Петербурге и РФ, рекомендуется проводить рутинное тестирование всех пациентов на устойчивость до начала лечения.

3. Однако на практике, проведение теста на резистентность ВИЧ всем впервые диагностированным пациентам клинически и экономически не эффективно и согласно национальным рекомендациям назначается исключительно пациентам в острой стадии. Исходя из того, что ВИЧ-инфекция в данной стадии заболевания выявляется достаточно редко, более рациональным методом представляется периодическое выборочное исследование первичной

резистентности в разных группах и регионах.

4. При назначении АРВТ постоянно оценивается приверженность к терапии у пациентов, предотвращаются необоснованные изменения схем терапии. В случае обнаружения устойчивых штаммов ВИЧ, следует назначать АРВТ с учетом профиля резистентности. В последние годы схемы на основе современных ингибиторов интегразы становятся эффективнее препаратов других классов.

ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ

Распространение резистентности ВИЧ к АРВ препаратам оказывает влияние на лечение, приводя к снижению эффективности применяемых препаратов, что представляет собой серьезную клиническую и экономическую проблему (рост смертности от ВИЧ/СПИДа, стоимости АРВТ и др.). Дальнейшее изучение течения ВИЧ-инфекции может служить инструментом для улучшения методов ранней диагностики и, таким образом, способствовать раннему назначению терапии и улучшению прогноза заболевания. В ряде случаев клинические проявления на ранней стадии могут значительно отличаться от типичного течения заболевания.

Продолжение данного исследования в будущем будет способствовать получению обновленных данных о распространенности циркулирующих мутаций, ответственных за развитие резистентности ВИЧ-1 среди впервые диагностированных пациентов в Санкт-Петербурге и поможет расширить представления о правилах назначения эффективных схем первой линии АРВТ и, таким образом, будем приближаться к цели покончить с эпидемией ВИЧ. Полученные данные скажутся на увеличении продолжительности жизни пациентов с ВИЧ, а также снижении скорости распространения ВИЧ-инфекции.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Эсауленко, Е. В. Диагностика ВИЧ-инфекции на этапе медико- санитарной помощи / К. Е. Новак, Т. Ингабире // Медицина и организация здравоохранения. – 2020. – Т. 5. – № 1. – С. 12 – 17.
2. **Новак, К. Е. Оптимизация профилактики развития мутаций лекарственной устойчивости ВИЧ-1 у пациентов с вирусологической неэффективностью антиретровирусных препаратов/ А. О. Никифорова, Т. Ингабире, Е. Б. Зуева, А. Н. Щемелев, Е. В. Эсауленко, А. В. Семенов // Вестн. Новг. гос. ун-та. Сер. Медицинские науки. – 2020. – Т. 119. – № 3. – С. 47 – 51.**
3. Эсауленко, Е. В. Трудности первичной диагностики ВИЧ-инфекции на этапах оказания медицинской помощи / К. Е. Новак, Т. Ингабире, С. А. Семёнова, А. О. Никифорова //

Эпидемиология и инфекционные болезни. – 2020. – Т. 1. – № 25 – С. 11 – 17.

4. Ингабире Т., Новак К.Е. Диагностические маски у впервые выявленных ВИЧ-инфицированных пациентов на разных этапах оказания медицинской помощи. В сборнике: Актуальные вопросы социально-значимых инфекционных и паразитарных заболеваний. Материалы 20-й Российско-Итальянской конференции. Великий Новгород, 2020 г. – С. 15 – 18.

5. Ингабире Т. Ошибки диагностики ВИЧ-инфекции на разных этапах оказания медицинской помощи. В сборнике тезисов материалов XII Ежегодного Всероссийского интернет-конгресс по инфекционным болезням с международным участием «Инфекционные болезни в современном мире: диагностика, лечение и профилактика» 7 – 9 сентября 2020 г. Москва. – С. 12 – 14.

6. Ingabire, T. Primary HIV drug resistance among newly HIV type-1 diagnosed patients in St. Petersburg/ A. V. Semenov, E. V. Esaulenko, E. B. Zueva, A. N. Schemelev , A. D. Bushmanova // HIV infection and immunosuppressive Disorders. – 2021. – Vol. 13. – № 1. – P. 70 – 79.

7. Ингабире Т. Современные аспекты эпидемиологии гепатита С и ВИЧ-инфекции, проблемы диагностики у пациентов с ко-инфекцией. В сборнике тезисов материалов V Национального конгресса с международным участием «Здоровые дети – будущее страны» 26 – 28 мая 2021 г. Санкт-Петербург. – С. 167 – 168.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АРВП – антиретровирусные препараты

АРВТ – антиретровирусная терапия

ВААРТ – высокоактивная антиретровирусная терапия

ВГ – вирусные гепатиты

ВГВ – вирусный гепатит В

ВГС – вирусный гепатит С

ВИЧ – вирус иммунодефицита человека

ВОЗ – всемирная организация здравоохранения

ВПГ – вирус простого герпеса

ВЭБ – вирус Эпштейна-Барр

ИБ – иммуоблот

ИП – ингибитор протеазы

ИФА – иммуноферментный анализ

КТ – компьютерная томография

ЛУ – лекарственная устойчивость

МРТ – магнитно-резонансная томография

МУ – мутация устойчивости

НИОТ – нуклеотидные ингибиторы обратной транскриптазы
ННИОТ – не нуклеотидные ингибиторы обратной транскриптазы
ПМЛ – прогрессирующая мультифокальная лейкоэнцефалопатия
ПЦР – полимеразная цепная реакция
РНК – рибонуклеиновая кислота
РФ – российская федерация
СЗФО – северо-западный федеральный округа
СК – саркома Капоши
СМЖ – спинномозговая жидкость
СПИД – синдром приобретенного иммунодефицита
ТБ – туберкулез
УЗИ – ультразвуковое исследование
ФГДС – Фиброгастроудоденоскопия
ЦМВ – цитомегаловирус
ЦНС – центральная нервная система
ЭКГ – электрокардиограмма
ЗТС – ламивудин
АВС – абакавир
АТV – атазанавир
AZT – азидотимидин (зидовудин)
COVID-19 – коронавирусная инфекция 2019 года
D4T – ставудин
DDI – диданозин
DOR – доравирин
EFV – эфавиренз
ETR – этравирин
FTC – эмтрицитабин
LPV – лопинавир
NVP – невирапин
RPV – рилпивириин
TDF – тенофовир