

момент вакцинации могут иметь клетки памяти, которые стимулируются как ЖГВ, так и ИГВ [4].

Отрицательным моментом при иммунизации ЖГВ является активная репродукция вакцинного штамма в верхнем респираторном тракте, так как создает опасность распространения вируса и его генетического материала в популяции. Этот феномен отмечен для обеих лицензированных ХА-вакцин. Так, ХА-вакцинный штамм, полученный на основе низкопатогенного вируса гриппа птиц – А/17/утка/Потсдам/86/92 (H5N2), выделялся у привитых людей в течение 11 дней [13]. А в описании ХА-ЖГВ Flumist (США) отмечается, что вакцинный вирус может репродуцироваться до 21 дня. Ограничить репродукцию вакцинного штамма при сохранении защитных свойств возможно при использовании вакцинных кандидатов, аттенуированных за счет удаления NS1-гена [12].

Необходимо отметить, что показатели иммуногенности и защитной эффективности прототипов ИГВ, подготовленных из вакцинных кандидатов на основе стандартного донора PR8 и штамма А/НК/са, достоверно не различались. Интересно, что скорость накопления штамма Ast/НК в КЭ была значительно выше скорости накопления штамма Ast/PR8. Одним из возможных объяснений этого факта может служить различное функциональное соответствие генов реассортанта, например взаимодействие полимеразы PB1 штамма-донора с генными сегментами, кодирующими HA и NA гетерологичного птичьего вируса [6, 15].

Результаты проведенных испытаний на морских свинках прототипов ЖГВ и ИГВ, подготовленных из реассортанта Ast/НК, демонстрируют более высокую защитную эффективность препарата ЖГВ по сравнению с таковой ИГВ и подтверждают перспективность использования штамма А/Гонконг/1/68/162/35(H3N2) в качестве единственного донора для подготовки вакцинных и производственных реассортантов.

ЛИТЕРАТУРА [REFERENCES]

1. Александрова Г.И., Климов А.И. Живая вакцина против гриппа. М.: Наука; 1994. [Aleksandrova G.I., Klimov A.I. A live vaccine against influenza. Moscow: Nauka; 1994.] (in Russian).
2. Потачук М.В., Репко И.А., Сергеева М.В. и др. Характеристика реассортантных штаммов вируса гриппа на основе нового донора А/Гонконг/1/68/162/35(H3N2). Вопросы вирусологии. 2012; 57 (6): 42–6. [Potapchuk M.V., Repko I.A., Sergeeva M.V. et al. Voprosy virusologii. 2012; 57(6): 42–6.] (in Russian).

3. Цыбалова Л.М., Горев Н.Е., Потачук М.В. и др. Характеристика холодадаптированного штамма вируса гриппа А/Гонконг/1/68/162/35 (H3N2) как потенциального донора аттенуации и высокой репродуктивности. Вопросы вирусологии. 2012; 57 (6): 13–7. [Tsybalova L.M., Gorev N.E., Potapchuk M.V. et al. Voprosy virusologii. 2012; 57(6): 13–7.] (in Russian).
4. Beyer W.E., Palache A.M., de Jong J.C., Osterhaus A.D. Cold-adapted live influenza vaccine versus inactivated vaccine: systemic vaccine reactions, local and systemic antibody response, and vaccine efficacy. A meta-analysis. Vaccine. 2002; 20: 1340–53.
5. Cox R.J., Brokstad K.A., Ogra P. Influenza virus: immunity and vaccination strategies. Comparison of the immune response to inactivated and live, attenuated influenza vaccines. Scand. J. Immunol. 2004; 59: 1–15.
6. Harvey R., Wheeler J.X., Wallis C.L. et al. Quantitation of haemagglutinin in H5N1 influenza viruses reveals low hemagglutinin content of vaccine virus NIBRG-14 (H5N1). Vaccine. 2008; 26: 6550–4.
7. Horimoto T., Takada A., Fujii K. et al. The development and characterization of H5 influenza virus vaccines derived from a 2003 human isolate. Vaccine. 2006; 24: 3669–76.
8. Kistner O., Howard M.K., Spruth M. et al. Cell culture (Vero) derived whole virus (H5N1) vaccine based on wild-type virus strain induces cross-protective immune responses. Vaccine. 2007; 25: 6028–36.
9. Lowen A.C., Steel J., Mubareka S. et al. Blocking interhost transmission of influenza virus by vaccination in the guinea pig model. J. Virol. 2009; 83: 2803–18.
10. Nurpeysova A., Khairullin B., Kassenov M. et al. Preclinical testing of Kazfluvac, a vaccine against pandemic influenza A/H5N1v. J. Pharm. Biomed. Sci. 2011; 1: 108–12.
11. Reed L.I., Muench H. A simple method of estimation fifty per cent endpoints. Am. J. Hyg. 1938; 27: 493–7.
12. Romanova J., Krenn B.M., Wolschek M. et al. Preclinical evaluation of a replication-deficient intranasal DeltaNS1 H5N1 influenza vaccine. PLoS One. 2009; 4: e5984.
13. Rudenko L., Kailinsky A. Evaluation of Russian live attenuated vaccine H5N2 in clinical trials. http://www.who.int/entity/vaccine_research/diseases/influenza/160207_Rudenko.pdf (дата обращения 26.08.2012).
14. Rudneva I.A., Sklyanskaya E.I., Barulina O.S. et al. Phenotypic expression of HA-NA combinations in human-avian influenza A reassortants. Arch. Virol. 1996; 141: 1091–9.
15. Rudneva I.A., Timofeeva T.A., Shilov A.A. et al. Effect of gene constellation and postreassortment amino acid change on the phenotypic features of H5 influenza virus reassortants. Arch. Virol. 2007; 152: 1139–45.
16. Stephenson I., Wood J.M., Nicholson K.G. et al. Detection of anti-H5 responses in human sera by HI using horse erythrocytes following MF59-adjuvanted influenza A/Duck/Singapore/97 vaccine. Virus Res. 2004; 103: 91–5.
17. Sultankulova K.T., Sandybayev N.T., Chervyakova O.V. et al. New recombinant strain A/HK/Astana/6/2/2010 for prophylaxis of A/H5N1 influenza. BTRB. 2012; 1: 5–14.
18. Sun Y., Bi Y., Pu J. et al. Guinea pig model for evaluating the potential public health risk of swine and avian influenza viruses. PLoS One. 2010; 5: e15537.
19. Van Hoesven N., Belsler J.A., Szretter K.J. et al. Pathogenesis of 1918 pandemic and H5N1 influenza virus infections in a guinea pig model: antiviral potential of exogenous alpha interferon to reduce virus shedding. J. Virol. 2009; 83: 2851–61.

Поступила 17.09.12

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2013

УДК 616.98:578.828.61-092:612.017.1.0641-085.015.8

Н.Н. Зайцева, О.В. Парфенова, Е.И. Ефимов

Анализ распространенности резистентных штаммов ВИЧ к антиретровирусным препаратам в Приволжском федеральном округе

ФБУН Нижегородский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. акад. И.Н. Блохиной Роспотребнадзора, 603950, Нижний Новгород

Исследована распространенность мутаций первичной резистентности и резистентности на фоне приема высокоактивной антиретровирусной терапии (АРТ) у ВИЧ-инфицированных Приволжского федерального округа. Среди АРТ-наивных ВИЧ-позитивных пациентов мутаций, приводящих к развитию резистентности, не выявили. Среди лиц, получающих АРТ, отметили высокий уровень резистентности к ламивудину, невирапину, эфаверенцу. В целом частоту мутаций устойчивости к ингибиторам обратной транскриптазы нуклеозидным (23,8%) и нуклеозидным (26,9%) определяли чаще, чем к ингибиторам протеазы (1,2%).

Ключевые слова: вирус иммунодефицита человека; высокоактивная антиретровирусная терапия; резистентные штаммы ВИЧ.

Контактная информация:

Зайцева Наталья Николаевна (Zaytseva Natalia Nikolaevna), e-mail: prokaids@mail.ru; 603950, Нижний Новгород, ул. Малая Ямская, 71

Analysis of the prevalence of HIV resistant strains to antiretroviral drug in Privolzhsky Federal District

N. N. Zaytseva, O. V. Parfenova, E. I. Efimov

Blokhin Scientific-Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Federal Service on Customers' Rights Protection and Human Well-being Surveillance, Nizhny Novgorod, Russia

Prevalence of the primary drug resistance mutations and resistance developed in patients receiving highly active antiretroviral therapies in the HIV-infected persons in the Privolzhsky federal district was studied. It was demonstrated that among the ART-naive HIV-positive patients there were no mutations leading to the development of resistance. A high level of the resistance to lamivudin, nevirapin, efavirenz was revealed among the persons receiving the antiretroviral therapy. As a whole, the frequency of mutations of resistance to nucleoside reverse transcriptase inhibitors (23.8%) and nonnucleoside reverse transcriptase inhibitors (26.9%) was much higher than to protease inhibitors (1.2%).

Key words: the human immunodeficiency virus; highly active antiretroviral therapy; resistant HIV strains.

Введение

Приволжский федеральный округ (ПФО) является территорией с очень высоким уровнем пораженности населения ВИЧ-инфекцией и показателями заболеваемости, распространенности и пораженности, превышающими среднероссийские значения, начиная с 2000 г. На 01.01.13 г. при анализе статистических отчетных форм «Сведения о мероприятиях по профилактике ВИЧ-инфекции, гепатитов В и С, выявлению и лечению больных ВИЧ», «Сведения о контингентах больных ВИЧ-инфекцией», поступивших из 14 территориальных центров по профилактике и борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями, в ПФО выявили 166 520 ВИЧ-инфицированных, что составляет около 1/4 общего числа ВИЧ-позитивных жителей России. Более 65% территорий ПФО имеют высокий и очень высокий уровень пораженности населения. В ходе реализации приоритетного национального проекта «Здоровье» в последние годы существенно увеличился охват лечением ВИЧ-инфицированных, их общее количество на 01.01.13 г. составило 44 803.

Необходимо отметить, что около 30% лиц, живущих с ВИЧ (ЛЖВ) и получающих высокоактивную антиретровирусную терапию (АРТ), прерывали ее по разным причинам. В это число вошли и умершие пациенты, доля которых составила более 1/3 (39%) от прервавших. В 2010–2011 гг. наблюдался рост доли пациентов, которым заменялась схема терапии ввиду ее неэффективности, что составило 3,6 и 3,4% от числа получавших высокоактивную АРТ соответственно, в 2009 г. – 2,9%. Все это, несомненно, делает актуальным исследование резистентности ВИЧ к антиретровирусным (АРВ) препаратам.

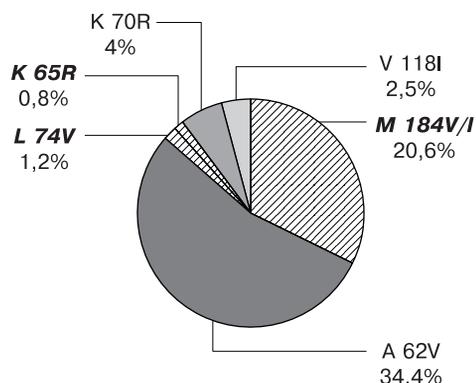


Рис. 1. Частота выявления мутаций, влияющих на устойчивость к НИОТ.

Штриховкой отмечены мутации, определяющие высокий уровень устойчивости к НИОТ.

Материалы и методы

В Приволжском окружном центре по профилактике и борьбе со СПИД исследования резистентности ВИЧ к АРВ-препаратам проводятся с 2008 г. Всего проанализировано 702 образца плазмы крови у ВИЧ-инфицированных, из них нуклеотидную последовательность определяли у 594 (84,6%). Свыше 15% образцов не подлежали исследованию в связи с нарушениями преаналитического этапа (несоответствие в сроках доставки, уровня вирусной нагрузки и прочее).

Провели исследование 44 образцов плазмы крови у ВИЧ-инфицированных с недавней сероконверсией (предполагаемое заражение произошло в течение года), проживающих на территории ПФО и не получавших терапию ранее, с целью оценки уровня распространенности первичной резистентности.

Большинство же анализируемых образцов поступало от лиц, получающих лечение. Всего исследовали 550 образцов плазмы у ВИЧ-позитивных пациентов, получающих АРТ с вирусологической и иммунологической неэффективностью. В том числе из Нижегородской области (135 образцов); Мордовии (12 образцов); Саратовской области (13 образцов); Самарской области (94 образца); Чувашии (58 образцов); Кировской области (31 образец); Марий Эл (13 образцов); Пензенской области (39 образцов); Удмуртии (22 образца); Ульяновской области (85 образцов); Оренбургской области (45 образец); Башкортостана (3 образца).

Исследования проводили методом секвенирования (автоматический секвенатор ABI Prism 3100 Applied Biosystems, США) с использованием коммерческой тест-системы ViroSeq™ HIV-1 Genotyping System v.2.0. фирмы Abbott (США) с применением программного обеспечения системы генотипирования ViroSeq «HIV-1

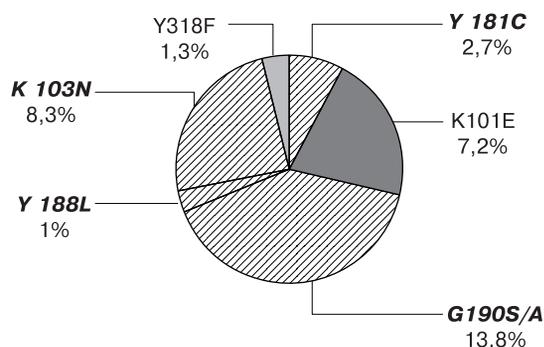


Рис. 2. Частота выявления мутаций, влияющих на устойчивость к ННИОТ.

Штриховкой отмечены мутации, определяющие высокий уровень устойчивости к ННИОТ.

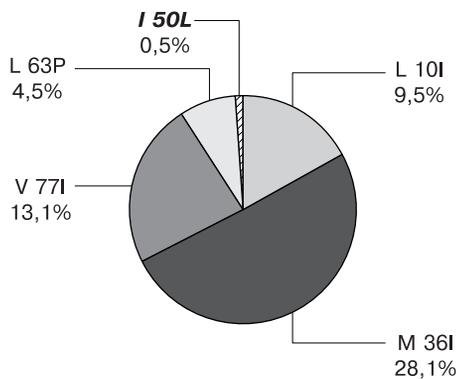


Рис. 3. Частота выявления мутаций, влияющих на устойчивость к ИП.

Штриховкой отмечены мутации, определяющие высокий уровень устойчивости к ИП.

Genotyping System» v.2.8 и базы данных Стэнфордского университета.

Результаты

Среди АРТ-наивных пациентов обнаружили высокую (64,7%) частоту встречаемости мутации А 62V в гене обратной транскриптазы. В гене протеазы спектр мутаций был представлен следующими позициями: М 36I (8,8%), V 77I (8,8%), L 10I (8,8%), А 71Т (2,9%). В целом среди этой группы обследованных все выявленные мутации непосредственно не влияли на развитие устойчивости к АРВ-препаратам.

Среди лиц, получающих лечение, у 85 (21,4%) выявили резистентные штаммы ВИЧ более чем к одному классу препаратов.

В целом в данной группе пациентов частоту встречаемости мутаций высокого уровня устойчивости к нуклеозидным ингибиторам обратной транскриптазы (НИОТ) отметили у 23,8% (рис. 1). У 20,6% больных идентифицировали мутацию М 184V/I, которая является причиной высокого уровня резистентности к ламивудину. Также наблюдали высокую частоту мутации А62V (34,4%) и множество мутаций, которые определили как мутации полиморфизма.

Частота встречаемости мутаций высокого уровня устойчивости к ненуклеозидным НИОТ (ННИОТ) в целом составила 26,9%. Формирование резистентности к ННИОТ связано с наличием мутаций в следующих позициях: K103N, G190S[A, Y181C/V, которые определяли устойчивость вируса к далавердину, эфавиренцу, невирапину (рис. 2).

Частота встречаемости мутаций высокого уровня устойчивости к ингибиторам протеазы (ИП) была значительно меньше, чем к предыдущим двум классам препаратов, – 1,2% (рис. 3), что, возможно, связано с относительно поздним по сравнению с ингибиторами обратной транскриптазы применением данных препаратов в схемах лечения. Выявленные мутации устойчивости определяли резистентность к вирасепту (нелфинавир) и атазанавиру. Отметим также высокую частоту встречаемости мутации М 36I (28,1%) в гене протеазы.

В целом результаты нашего исследования согласуются с данными ряда авторов, полученными при изучении уровня первичной резистентности и резистентности на фоне приема АРВ-препаратов на территориях Дальневосточного, Южного и Северо-Кавказского федеральных округов России [1–3].

Выводы

1. Среди АРТ-наивных ВИЧ-позитивных пациентов мутаций, приводящих к развитию резистентности, не выявили.

2. У ВИЧ-позитивных пациентов, получающих лечение, отметили высокий уровень резистентности к ламивудину, невирапину, эфавиренцу.

3. Выявили высокую частоту встречаемости мутации А62V в гене обратной транскриптазы среди АРТ-наивных пациентов и у лиц, получающих лечение.

4. Установили, что частота встречаемости мутаций высокого уровня устойчивости к ингибиторам протеазы ниже, чем к ингибиторам обратной транскриптазы.

5. Множественная устойчивость к двум классам препаратов или более встречалась в 21,4% случаев.

6. Необходимо систематическое проведение исследований по определению первичной резистентности в связи с увеличением числа больных, получающих терапию, и количеством регионов с длительным опытом применения высокоактивной АРТ.

7. При неэффективности терапии определение резистентности ВИЧ к АРВ-препаратам необходимо для выбора оптимальной схемы лечения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Котова В.О., Балахонцева Л.А., Иванов А.Н., Троценко О.Е. Первичная резистентность ВИЧ к антиретровирусным препаратам у ВИЧ-инфицированных Дальневосточного федерального округа. В кн.: Материалы VII Всероссийской научно-практической конференции «Молекулярная диагностика-2010». М.; 2010: т. 1: 43–6.
2. Котова В.О., Балахонцева Л.А., Иванов А.Н., Троценко О.Е. Опыт изучения резистентности к антиретровирусным препаратам у ВИЧ-инфицированных в Дальневосточном федеральном округе. *Инфекция и иммунитет*. 2012; 2: 416.
3. Шемшурова А.Б., Колпаков Д.С., Свечникова Л.В., Кучеренко И.Б., Твердохлебова Т.И., Саухат С.Р. и др. Мониторинг за формированием резистентных штаммов ВИЧ-1 у больных ВИЧ-инфекцией ЮФО и СКФО. *Инфекция и иммунитет*. 2012; 2: 430.

REFERENCES

1. Kotova V.O., Balakhontseva L.A., Ivanov A.N., Trotsenko O.E. Primary resistance of HIV to anti-retrovirus drugs at HIV-infected in the Far East federal district. In: *Molecular Diagnostics-2010: Proc. VII FII-Russian scientific and practical conference Moscow*; 2010: v. 1: 43–6 (in Russian).
2. Kotova V.O., Balakhontseva L.A., Ivanov A.N., Trotsenko O.E. Experience of studying of resistance to anti-retrovirus drugs at HIV-infected in the Far East federal district. *Infektsiya i immunitet*. 2012; 2: 416 (in Russian).
3. Shemshura A.B., Kolpakov D.S., Svechnikova L.V., Kucherenko I.B., Tverdokhlebova T.I., Saukhat S.R. et al. Monitoring behind formation of HIV-1 resistant strains at patients with HIV infection of the Southern Federal District and North Caucasus federal district. *Infektsiya i immunitet*. 2012; 2: 430 (in Russian).

Поступила 24.01.13