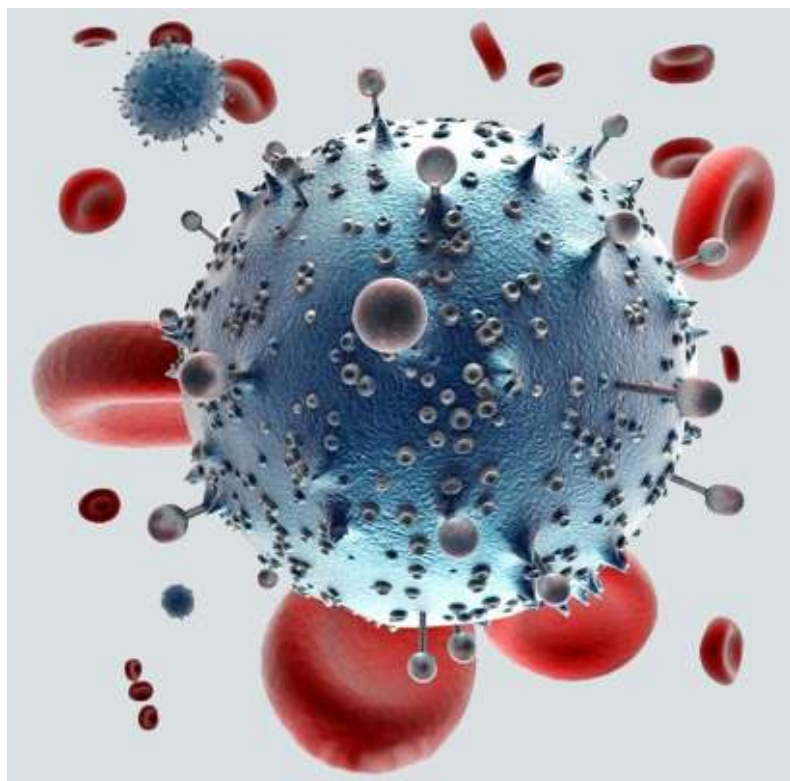


# Лекарственная устойчивость у ВИЧ-инфицированных пациентов Санкт-Петербурга



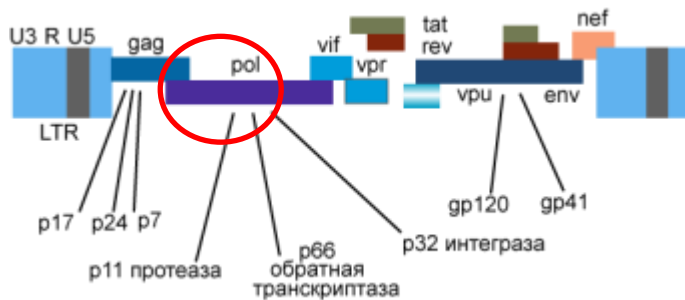
Дементьева Н.Е.  
СПб ГБУЗ Центр по  
профилактике и борьбе со  
СПИД и инфекционными  
заболеваниями

III Санкт-Петербургский форум  
по ВИЧ-инфекции

4-5 октября 2018 года

# Генотипирование ВИЧ в КДЛ СПб Центра СПИД

С 2005 по 2018 выполнено более 3500 исследований



Исследования проводятся с помощью системы генотипирования ViroSeq HIV-1 (Abbott Molecular), предназначенной для анализа гена *pol* (ген протеазы и две трети гена обратной транскриптазы). Мутации в этих регионах РНК ВИЧ являются основной причиной лекарственной устойчивости вируса к большинству антиретровирусных препаратов.

Детекция нуклеотидной последовательности выполняется на генетическом анализаторе ABI Prism 3500xl (24 капилляра) методом капиллярного электрофореза.



# КПД

За 8 месяцев 2018 года – 338 направлений на резистентность, из них:

- 14% -технически невозможно выполнить исследование (вирусная нагрузка менее 500 копий/мл (12,5%), реже - ошибки преаналитического этапа)
- 86% - результат получен , из них 31% - чувствительны ко всем АРВ-препаратам

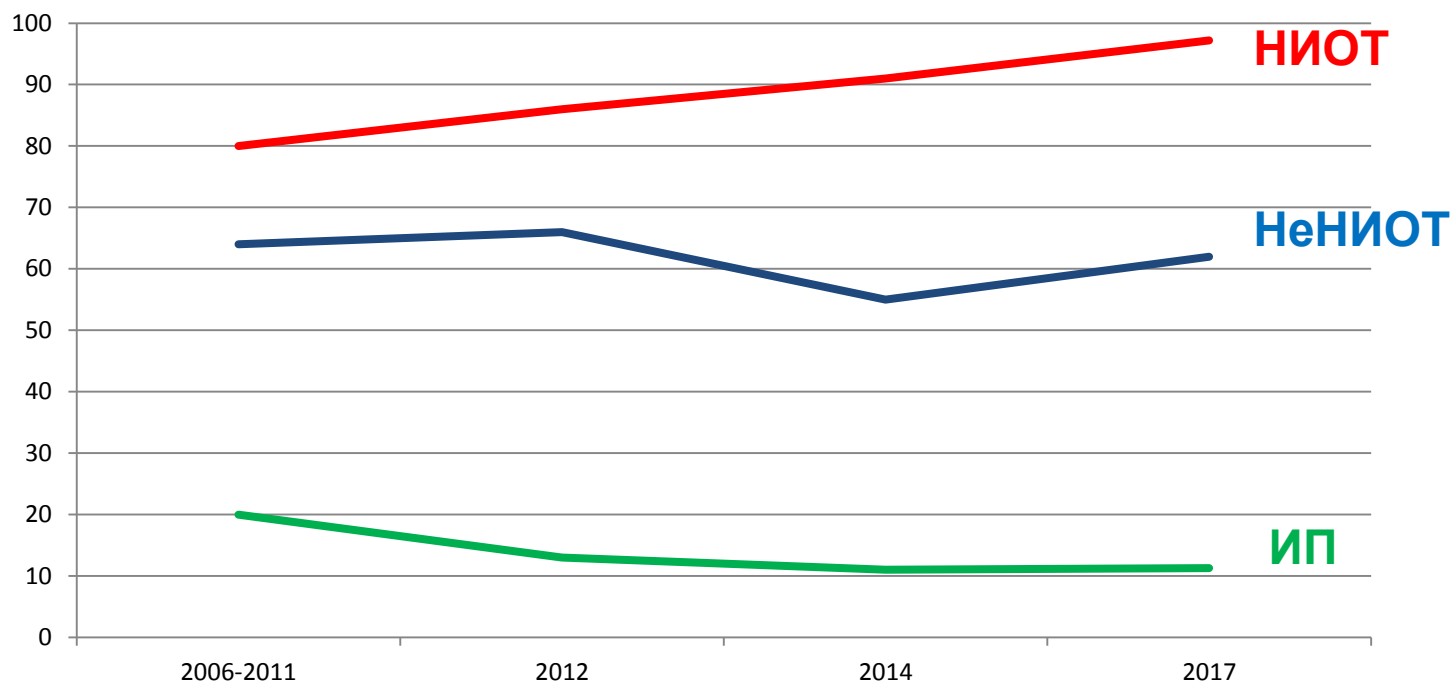
**ИТОГО из всех направленных на резистентность обнаружены мутации устойчивости у 55%**

**ПРИЧИНЫ:**

- 1. Неполная приверженность пациентов к АРВТ.** «ЕЩЕ не достиг вирусной супрессии» или «УЖЕ резистентен»? Невозможно добиться 100% приверженности, чтобы провести анализ.
2. Направление в отсутствие показаний (иммунологический неуспех, не прошло 6 месяцев с начала АРВТ, направление после перерыва АРВТ, в т.ч. схем не содержащих НеНИОТ и тд.)
3. Ошибки преаналитического этапа: неправильный отбор крови и др.

# Приобретенная лекарственная устойчивость

## Частота встречаемости мутаций устойчивости к различным группам препаратов



**Устойчивость к НИОТ и ИП практически всегда сочетается с устойчивостью к НИОТ**

## Приобретенная резистентность (публикации)

Кириченко АА и др., 2017. 160 пациентов на АРВТ с признаками вирусологической неэффективности терапии из 23 регионов России, 2015-2017гг.

НИОТ-84,7%, в т.ч. M184V – 68,7%

НеНИОТ -53,4%, в т.ч. G190S – 29,4%

ИП- 19,6%

Устойчивость к двум группам препаратов – 67%

Плотникова Ю.К. и др., 2017. Иркутская область. 258 пациентов на АРВТ.

НИОТ-88,5%, в т.ч. M184V – 68,7%

НеНИОТ -71%, в т.ч. G190S – 29,4%

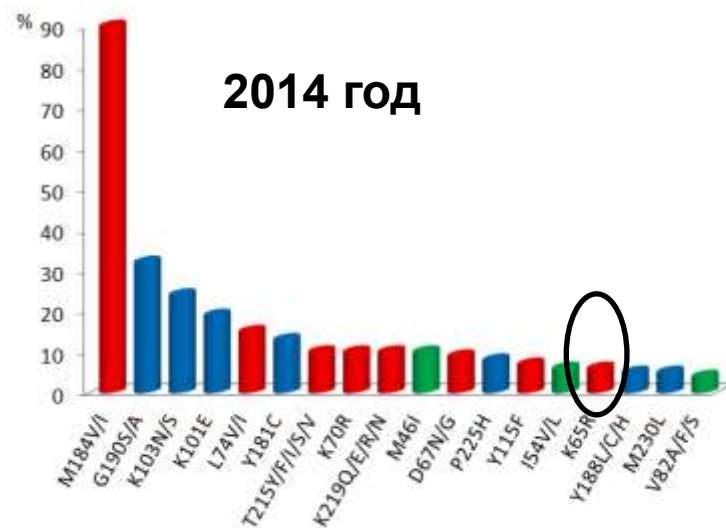
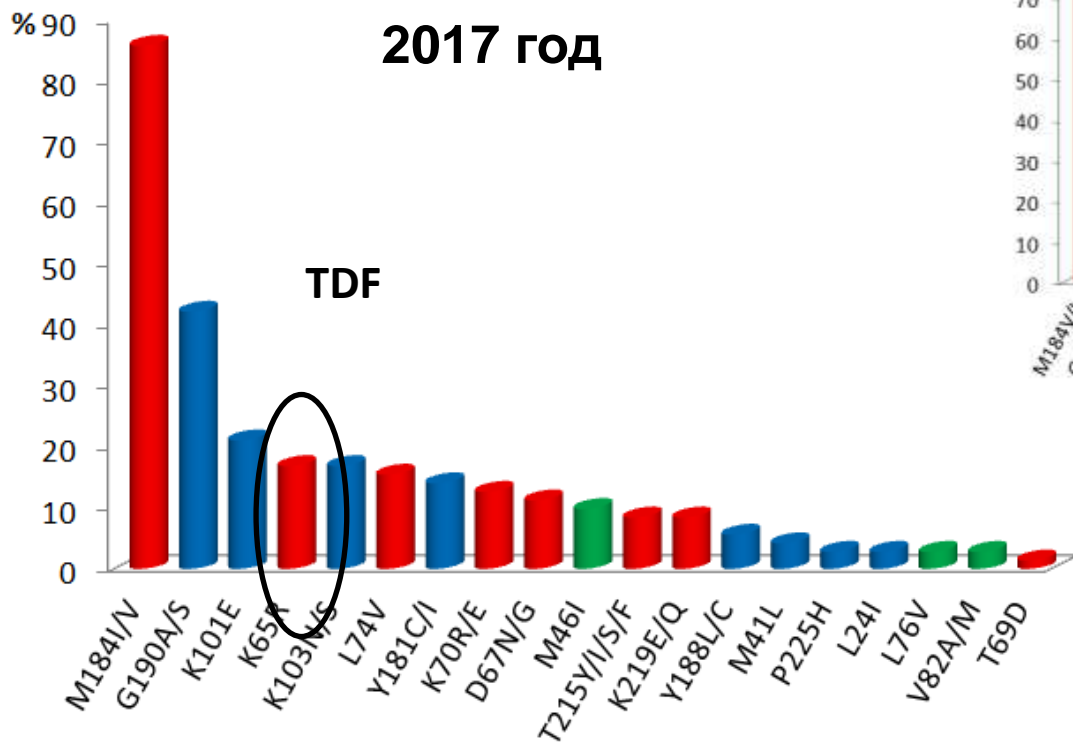
ИП- 23%

Устойчивость к двум группам и более группам препаратов – 72%

# Приобретенная лекарственная устойчивость

## Частота встречаемости различных мутаций устойчивости

Выборка 2017 года -71 пациент:  
 100% в анамнезе принимали НИОТ, 68% - НеНИОТ, 45% - ИП



# K65R

подвергается селекционному отбору на фоне схем с **TDF**, ABC, d4T, ddi  
снижает чувствительность ко всем НИОТ, кроме AZT, что значительно  
сокращает возможности дальнейшего применения схем на основе  
НИОТ

## Nucleoside Reverse Transcriptase Inhibitors

---

<b>abacavir (ABC)</b>	Intermediate Resistance
<b>zidovudine (AZT)</b>	Susceptible
<b>stavudine (D4T)</b>	High-Level Resistance
<b>didanosine (DDI)</b>	High-Level Resistance
<b>emtricitabine (FTC)</b>	Intermediate Resistance
<b>lamivudine (3TC)</b>	Intermediate Resistance
<b>tenofovir (TDF)</b>	High-Level Resistance

# Оценка передающейся резистентности

Под термином «первичная (передающаяся, популяционная) резистентность» подразумевается заражение вирусом, устойчивым к АРП, и **предполагается, что эту устойчивость, вирус приобрел на фоне антиретровирусной терапии, а не обладал ее изначально в своей природной форме!**

В целях унификации оценки передающейся резистентности международной экспертной группой под эгидой ВОЗ в 2007 году был разработан СПИСОК мутаций устойчивости, которые учитывают при анализе уровня передающейся устойчивости.

Мутации должны были отвечать четырем критериям:


1. Мутация должна вызывать или способствовать развитию резистентности и упоминаться в трех из пяти экспертных списков мутаций устойчивости (ANRS, Stanford HIVdb, Los-Alamos DB, Rega, IAS-USA);
2. Список мутаций должен быть применим к восьми наиболее распространенным подтипам ВИЧ-1;
3. В список не должны входить мутации, встречающиеся с частотой менее 0,5% среди вирусов субтипа с наибольшей распространенностью этой мутации;
4. **Мутации должны быть не полиморфными и не должны возникать в высокополиморфных позициях;** Некоторые мутации резистентности к лекарственным средствам встречаются и в отсутствие селективного давления лекарственного средства. Они не вызывают значимого снижения чувствительности. Эти полиморфные мутации не должны использоваться для наблюдения за передаваемым препаратом, поскольку они могут привести к завышению уровня передающейся резистентности.

*Diane E. Bennett, et al. Drug Resistance Mutations for Surveillance of Transmitted HIV-1 Drug-Resistance: 2009 Update*



# Онлайн программа для оценки уровня передающейся устойчивости – Calibrated population resistance (CPR) tool

*<http://cpr.stanford.edu/cpr.cgi>*

 **CPR** STANFORD UNIVERSITY  
HIV DRUG RESISTANCE DATABASE

<http://cpr.stanford.edu> email: [hivdb@stanford.edu](mailto:hivdb@stanford.edu)

[Code Version 6.0](#) » [ReleaseNotes](#)

Nucleotide sequences can be entered in FASTA format or plain text. Sequences in FASTA format or plain text can be pasted in the text box (option A) or uploaded (option B). Using options A or B, it is possible to analyze up to 500 sequences at a time (character limit: 1,000,000). Example data sets: [75 sequences from Baker \(2007\)](#) and [151 sequences from Dalai \(2009\)](#). \* For analyzing sequences containing integrase, use the previous version, [CPR V. 5.0](#).

### Sequences

**A Fasta Input**  
Paste nucleotide sequence data in fasta format in the box below.

**B Text File Upload**  
Choose a file to upload from your computer using the file selection box below.

Файл не выбран.

Identifier (Optional)  Output Analysis:

DRM List

# Передающаяся резистентность ВИЧ среди недавних сероконвертеров в Санкт-Петербурге



STANFORD UNIVERSITY  
HIV DRUG RESISTANCE DATABASE

<http://cpr.stanford.edu>

email: [hivdb@stanford.edu](mailto:hivdb@stanford.edu)

	2011-2014 гг (78 пациентов)	2018 (30 пациентов)
Передающаяся устойчивость (согласно SDRM 2009)	2,6% (2) HeНИОТ (G190S) ИП (I85V)	3,3% (1) ИП (M46I)

различия не значимы,  $p > 0,1$  (точный критерий Фишера)

# Текущая оценка уровней первичной устойчивости в регионах России (публикации)

- **Множество авторов не используют для анализа CPR, учитывают те или иные полиморфизмы:**

Кравченко А.В. и др, Москва, 2017. 215 пациентов до начала АРВТ, 2013-2015 гг. Уровень первичной резистентности – 1,9%. Учет мутаций не по списку ВОЗ (пересчет дает уровень 0,8%)

Воронцова Г.А. и др. Хабаровск, 2017. 35 «наивных» пациентов с недавней сероконверсией . Уровень первичной резистентности – 25,7%. Учет мутаций не по списку ВОЗ (пересчет дает уровень 2,9%)

Рыжов К.А. и др., 2017. Москва. Метод оценки –CPR.

215 «наивных» пациентов, 2013-2015. Уровень – 1,9%.

Мутации полиморфизма и второстепенных мутаций, связанных с резистентностью:

- ✓ в гене обратной транскриптазы - A62V (44,1%), V90I (10,5%), E138A (1,1%)
- ✓ в гене протеазы – L10I (16,4%), V77I (31,7%), M36A (69,9%), L63P (9,8%)

Зайцева Н.Н. и др., 2016. Приволжский федеральный округ. Метод оценки –CPR.

Уровень первичной устойчивости у недавних сероконвертеров – 0. У лиц со сроком заболевания более года – 1,5%.

- **Практически нет сведений о передающейся резистентности у недавних сероконвертеров, а хронические пациенты малоинформативны**

# Сравнение частоты выявления передающейся устойчивости с помощью популяционного метода секвенирования и секвенирования следующего поколения

Популяционное секвенирование обнаруживает только те варианты вируса, которые составляют более 20-25%,

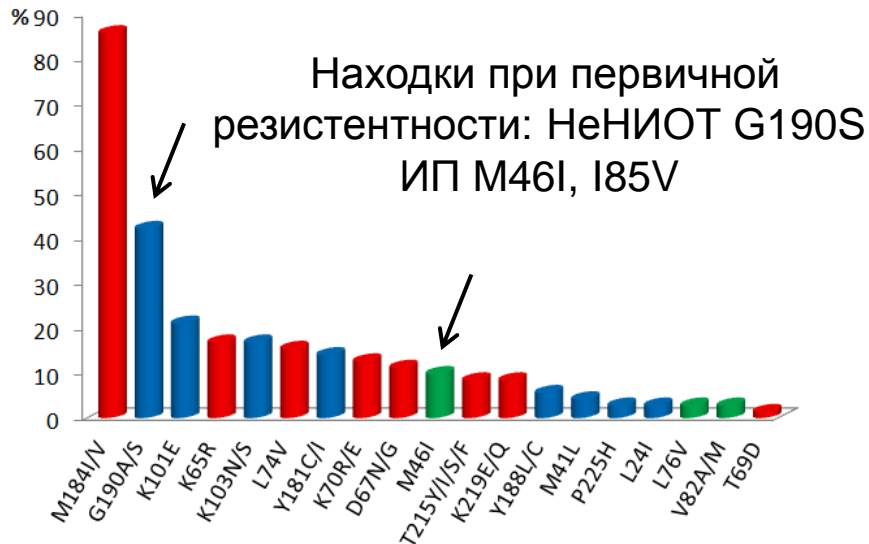
Can Sarinoglu R. et al., 2018. Турция, 45 нелеченых ВИЧ-инфицированных пациентов

	Секвенирование следующего поколения, %	Рутинное популяционное секвенирование, %
Передающаяся резистентность	<b>31.1</b>	<b>8.9</b>

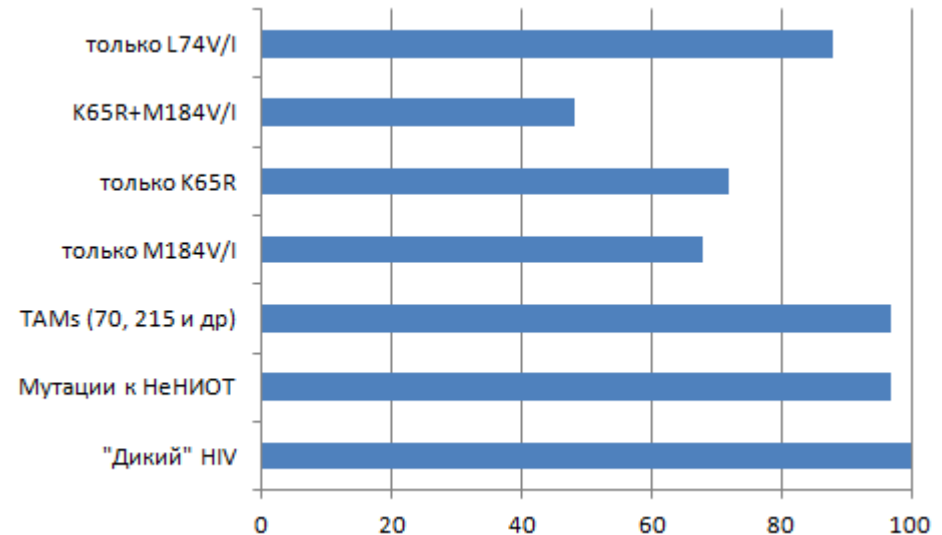
Moscona R. et al, 2017. Израиль, 2000-2014, 80 недавних сероконвертеров  
Наиболее часто встречающиеся минорные мутации резистентности K65R и D67N, выявленные NGS, не повлияли на эффективность ВААРТ

	Секвенирование следующего поколения, %	Рутинное популяционное секвенирование, %
Передающаяся резистентность	<b>31.3</b>	<b>8.8</b>
к ИП	11.3	0
к НИОТ	26.3	5.0
к НеНИОТ	7.5	3.8

## Наиболее часто встречающиеся мутации устойчивости на фоне АРВТ



## Репликативная способность ВИЧ (Damian J.McColl et al. 2008)



### Возможно уровень передающейся устойчивости недооценен.

- Рутинные методы обнаруживают вирусы, составляющие основную массу популяции, т.е. вирусы с высоким «фитнесом» не несущие основных мутаций устойчивости
- Относительная инфекционность вирусов, несущих основные мутации устойчивости неизвестна
- Способность таких вирусов закрепиться в «резервуарах» на фоне бурного размножения более конкурентоспособных вирусов неизвестна

## Drug Resistance Interpretation: RT

# E138A

NRTI Resistance Mutations: None

NNRTI Resistance Mutations: **E138A**

### Non-nucleoside Reverse Transcriptase Inhibitors

<b>efavirenz (EFV)</b>	Susceptible
<b>etravirine (ETR)</b>	Potential Low-Level Resistance
<b>nevirapine (NVP)</b>	Susceptible
<b>rilpivirine (RPV)</b>	Low-Level Resistance

## Перечень мутаций SDRM 2009 для анализа передающейся устойчивости ВИЧ



STANFORD UNIVERSITY  
HIV DRUG RESISTANCE DATABASE

<http://cpr.stanford.edu> email: [hivdb@stanford.edu](mailto:hivdb@stanford.edu)

Code Version 6.0 » [ReleaseNotes](#)

Summary	<b>Methods</b>	QA Details	Complete Mutation List	Genetic Diversity	New analysis
---------	----------------	------------	------------------------	-------------------	--------------

#### SDRM: SDRM\_2009

NRTI	M41L, K65R, D67NGE, T69Di, K70RE, L74VI, V75MTAS, F77L, Y115F, F116Y, Q151M, M184VI, L210W, T215YFISCDVE, K219QENR
NNRTI	L100I, K101EP, K103NS, V106MA, V179F, Y181CIV, Y188LHC, G190ASE, P225H, M230L
PI	L23I, L24I, D30N, V32I, M46IL, I47VA, G48VM, I50VL, F53LY, I54VLMATS, G73STCA, L76V, V82ATFSCML, N83D, I84VAC, I85V, N88DS, L90M

## Частота выявления мутации E138A/Q/G в образцах крови от пациентов с недавней сероконверсией

	<b>2011-2014 гг (78 пациентов)</b>	<b>2018 (28 пациентов)</b>
E138A	11,6% (9)	7,1% (2 пациента: 1 субтип A+1 субтип B)
E138Q/G	2,6% (2)	

различия не значимы,  $p > 0,1$  (точный критерий Фишера)

# Откуда у нелеченых пациентов мутация устойчивости к рилпивирину?

**Stanford University HIVdb:** E138A представляет собой полиморфную мутацию, которая в зависимости от субтипа ВИЧ встречается от 0,5% до 5% вирусов от пациентов, не получающих АРВ-терапию. Мутация снижает чувствительность к этравирину и рилпивирину примерно в 2 раза.

Согласно инструкции к препарату рилпивирин, присутствие E138A до терапии может снизить противовирусную активность рилпивирин.

У пациентов с вирусологической ремиссией на фоне АРВТ, замена схемы лечения на тенофовир+эмтрицитабин+рилпивирин, присутствие E138A не привело к вирусологическому отскоку (4 пациента).

Субтипы ВИЧ. «Наивные» пациенты	E138, замена глутаминовой кислоты на:					Общее количество обследованных пациентов
	A (аланин)	G (глицин)	K (лизин)	Q (глутамин)	R (аргинин)	
A	3,47	0,26	0,05	0,08	0	4367
B	1,95	0,26	0,14	0,02	0,01	32249
C	5,71	0,28	0,15	0,03	0,01	10210
D	2,58	0,58	0,32	0,06	0	1693
F	3,46	1,51	0	0	0	995
G	2,17	0,18	0,18	0,06	0	1800



# Подходы к оценке реального уровня передающейся устойчивости ВИЧ

- Уровень первичной устойчивости, обнаруженный при применении рутинного популяционного секвенирования, - низкий, таким образом массовое обследование пациентов до начала АРВТ экономически неэффективно
- В целях единообразия необходимо проводить оценку уровня передающейся устойчивости ТОЛЬКО с применением программы CPR
- Желательно использовать образцы от пациентов с недавней сероконверсией
- Рутинные методы секвенирования, вероятно, не позволяют выявить все случаи передающейся резистентности. Для определения реального уровня первичной устойчивости желательно организовать научное исследование с применением методов секвенирования следующего поколения в сравнении с рутинным популяционным секвенированием с дальнейшей оценкой влияния «минорных» лекарственноустойчивых вариантов ВИЧ на терапию
- На основании полученных результатов рассчитать экономическую эффективность обследования пациентов до начала ВААРТ в регионе с учетом текущей стоимости современных методов диагностики резистентности, схем терапии, экономического ущерба от применения неэффективных схем первого ряда с учетом установленной частоты передающейся устойчивости



Спасибо за внимание