

На правах рукописи

Зайцева Наталья Николаевна

**КОМПЛЕКСНЫЙ ПОДХОД К СОВЕРШЕНСТВОВАНИЮ СИСТЕМЫ
ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОГО НАДЗОРА ЗА ВИЧ-ИНФЕКЦИЕЙ НА
ОСНОВЕ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ МЕТОДОВ И
ГЕОИНФОРМАЦИОННЫХ ТЕХНОЛОГИЙ**

14.02.02 – Эпидемиология

АВТОРЕФЕРАТ

**диссертации на соискание ученой степени
доктора медицинских наук**

Казань – 2018

Работа выполнена в Федеральном бюджетном учреждении науки «Нижегородский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени академика И.Н. Блохиной» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека

Научный консультант:

Ефимов Евгений Игоревич - доктор медицинских наук, профессор, заслуженный врач Российской Федерации

Официальные оппоненты:

Беляков Николай Алексеевич – доктор медицинских наук, профессор, заслуженный деятель науки Российской Федерации, академик РАН, заведующий кафедрой социально-значимых инфекций ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Болехан Василий Николаевич – доктор медицинских наук, доцент, заместитель начальника научно-исследовательского центра ФГБОУ ВО «Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова» Министерства обороны Российской Федерации

Троценко Ольга Евгеньевна – доктор медицинских наук, директор ФБУН «Хабаровский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии» Роспотребнадзора

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова»

Защита состоится 20 сентября 2018 г. в ___ часов на заседании объединенного диссертационного совета Д 999.198.02 при ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации и ФГБОУ ВО «Приволжский исследовательский медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (420012, г. Казань, ул. Бутлерова, 49 «Б»)

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (420012, г. Казань, ул. Бутлерова, 49 «Б») и на сайте www.kazangmu.ru

Автореферат разослан «___» _____ 2018г.

Ученый секретарь диссертационного совета,
доктор медицинских наук, доцент

Е.А. Тафеева

Общая характеристика работы

Актуальность научного исследования. ВИЧ-инфекция – актуальная инфекционная патология человека, являющаяся глобальной проблемой мирового здравоохранения, характеризуется пандемическим распространением и хроническим латентным течением. По экспертным оценкам Объединенной программы ООН по ВИЧ/СПИД в конце 2014г. в мире насчитывалось до 41 млн. человек, инфицированных ВИЧ, из которых более 2 млн. были выявлены в 2014г. (ВОЗ, ЮНЭЙДС, 2016).

Эпидемия ВИЧ-инфекции в РФ в настоящее время развивается самыми быстрыми темпами в мире (ВОЗ, ЮНЭЙДС, 2016). Более 37% населения страны на начало 2015г. проживало на территориях с неблагоприятной эпидемической обстановкой и показателями пораженности свыше 0,5% (В.В. Покровский, 2015). Число зарегистрированных ВИЧ-позитивных российских граждан превысило 1 млн. человек, а количество смертей от всех причин среди инфицированных приблизилось к уровню в 200 000 (В.В. Покровский, 2015). Интенсификация эпидемического процесса ВИЧ-инфекции несет серьезные последствия для общественного здоровья населения, оказывает негативное многофакторное воздействие на демографические процессы и социально-экономическое развитие страны (В.В. Покровский, 2004, 2006, 2015; Г.Г. Онищенко, 2006, 2009).

Осуществление эпидемиологического надзора за ВИЧ-инфекцией - основа построения стратегии противодействия эпидемии и оценки эффективности мероприятий по профилактике, диагностике и лечению данного заболевания. Сложившаяся система эпидемиологического надзора за ВИЧ-инфекцией в РФ имеет мультифакторный и разноплановый характер, отличающийся от других стран мира в плане большей информативности и объективности (СП 3.1.5.2826-10, 2011). Вместе с тем, современные условия развития эпидемического процесса ВИЧ-инфекции требуют оперативного получения ответов на все чаще возникающие важнейшие вопросы эпидемиологии: определение источника инфекции, предполагаемые сроки инфицирования, установление границ эпидемического очага (А.Э. Лопатухин и др., 2014; Т.П. Сандырева и др., 2014), особенности циркуляции резистентных штаммов и генетических вариантов ВИЧ (Е.В. Казеннова и др., 2003; Е.В. Богословская и др., 2010; Н.Е. Дементьева и др., 2011; А.Э. Лопатухин и др., 2015), выяснение причин неэффективности применяемой АРВТ (М.Р. Бобкова, 2014; Н.Н. Ладная и др., 2014), развитие побочных эффектов терапии, непереносимость АРВП (Н.А. Беляков, 2016) и др.

Мощное развитие и укрепление материально-технической базы в рамках государственных программ по модернизации и оснащению современным лабораторным оборудованием учреждений службы профилактики ВИЧ-инфекции/СПИД, позволило расширить возможности эпидемиологического надзора, диагностики, мониторинга лечения ВИЧ-инфекции. Технологии, основанные на анализе генома вируса, нашли широкое применение в практической работе специалистов, осуществляющих эпидемиологический надзор и диспансерное наблюдение за ВИЧ-позитивными пациентами.

Применение современных молекулярно-генетических методов, обладающих высокой чувствительностью, информативностью и объективностью результатов,

на модели одного из экономически развитых федеральных округов России – Приволжского, характеризующегося очень высоким уровнем пораженности и значительными показателями заболеваемости населения ВИЧ-инфекцией, превышающими с 2000г. среднероссийский уровень, в значительной мере может способствовать оптимизации и совершенствованию применяемой в настоящее время системы методов и подходов к осуществлению всестороннего анализа и оценки эпидемиологической ситуации данной инфекционной патологии. Одним из крайне важных направлений надзора за ВИЧ-инфекцией следует считать оценку роли методов генотипирования ВИЧ и филогенетического анализа как базовой составляющей алгоритма работы специалистов органов здравоохранения и учреждений Роспотребнадзора при расследованиях сложных и спорных случаев заражения ВИЧ в эпидемических очагах ВИЧ-инфекции.

Несомненно, актуальным направлением научного обеспечения эпидемиологического надзора за инфекционной заболеваемостью является разработка и внедрение в практику работы специалистов программных продуктов и компьютерных технологий (Г.Г. Онищенко и др., 2006). Вопросы по включению в эпидемиологический мониторинг ВИЧ-инфекции современных элементов информационного обеспечения, таких как ГИС-технологии, позволяющих повысить качество и производительность анализа, структурировать значительный объем многолетних данных, ранее не рассматривались.

Вышеизложенные обстоятельства определили необходимость модернизации и важность совершенствования системы эпидемиологического надзора за ВИЧ-инфекцией с использованием комплексного подхода, включающего широкое использование современных молекулярно-генетических методов и компьютерных программных решений на основе геоинформационных технологий, что позволит научно обоснованно принимать управляющие стратегические решения по предупреждению дальнейшего распространения ВИЧ-инфекции.

Степень разработанности темы. Фундаментальные основы изучения характера и тенденций развития эпидемического процесса ВИЧ-инфекции в контексте мероприятий, формирующих эпидемиологический надзор за ВИЧ-инфекцией в РФ, заложены В.В. Покровским (1987-1990, 1993, 1996, 1998-2000, 2004, 2006, 2008, 2015). Существенный вклад в изучение вопросов применения методов молекулярной биологии в мониторинге ВИЧ-инфекции внесли ряд отечественных авторов: А.Ф. Бобков, 1999, 2000, 2002, 2003, 2004; М.Р. Бобкова, 2000, 2002, 2007, 2012, 2014; Н.Н. Ладная и др., 2000, 2006, 2007, 2013, 2014; Е.В. Казеннова и др., 2003, 2014; О.Е. Троценко, 2005, 2010, 2012; Н.Е. Дементьева и др., 2008, 2011, 2012; А.Э. Лопатухин и др., 2010, 2014, 2015; С.Я. Зверев, 2004, 2010; Е.В. Богословская, 2010, 2011; Г.Г. Саламов и др., 2011; В.Б. Мусатов и др., 2012, 2013; М.Н. Носик, 2014; Т.П. Сандырева и др., 2014; Д.Е. Киреев и др., 2014.

Вместе с тем, современная политическая и социально-экономическая ситуация определенным образом влияет на ход эпидемического процесса ВИЧ-инфекции, предполагая принятие ряда мер и проведение дополнительных мероприятий в системе эпидемиологического надзора за ВИЧ-инфекцией, в том числе: дальнейшее изучение особенностей циркуляции и распространения резистентных штаммов и генетических вариантов ВИЧ в масштабах федеральных

округов РФ с оценкой качества проведения процедуры преаналитического этапа в мониторинге лекарственной устойчивости ВИЧ, определение роли современных лабораторных методов в надзоре за ВИЧ-инфекцией в изолированных коллективах, таких как учреждения пенитенциарной системы.

Существенно важным и актуальным моментом надзора является проведение в эпидемических очагах ВИЧ-инфекции, в том числе при подозрении на инфицирование ВИЧ при оказании медицинской помощи, молекулярно-генетических экспертиз с оценкой значимости последних.

Проблему повышения эффективности эпидемиологического надзора различных инфекционных заболеваний на основе применения геоинформационных систем освещали в своих трудах А.Б. Хайтович и др., 2002; А.А. Романюха и др., 2005; Г.Г. Онищенко и др., 2006. Однако, вопросы по созданию единого информационного пространства и систематизации разрозненных статистических данных на основе современных программных продуктов и компьютерных технологий с целью проведения полноценного эпидемиологического анализа заболеваемости ВИЧ-инфекцией ранее не рассматривались.

В этой связи, задачи внедрения в практику работы специалистов, осуществляющих мониторинг ВИЧ-инфекции, передовых геоинформационных технологий и современных лабораторных методов, являются актуальными и своевременными.

Цель исследования. Научное обоснование и организационно-методическое обеспечение совершенствования и оптимизации эпидемиологического надзора за ВИЧ-инфекцией на основе использования комплекса молекулярно-генетических методов и геоинформационных технологий.

Задачи исследования:

1. Провести анализ эпидемиологической ситуации по ВИЧ-инфекции на территории Приволжского федерального округа. Выявить тенденции и определить темпы динамики эпидемического процесса данной нозологии с оценкой качества мероприятий по организации сероэпидемиологического скрининга населения округа на ВИЧ-инфекцию за многолетний период (1988-2014гг.).

2. Осуществить молекулярно-генетический мониторинг штаммов ВИЧ, циркулирующих на административных территориях Приволжского федерального округа, включая надзор за популяцией возбудителя (ВИЧ) и генетическими свойствами организма человека. Оценить уровень распространенности первичной и вторичной резистентности ВИЧ к разным группам антиретровирусных препаратов и профиль лекарственной устойчивости вируса в субъектах округа.

3. Определить гендерные различия частоты встречаемости мутаций резистентности ВИЧ к антиретровирусным препаратам у ВИЧ-позитивных лиц в Приволжском федеральном округе.

4. Выявить особенности циркуляции вирусов различных субтипов в субъектах Приволжского федерального округа в 2008-2014гг. На основе результатов филогенетического анализа в сравнительном порядке установить молекулярно-эпидемиологические связи между штаммами вирусов, выделенных от ВИЧ-инфицированных лиц в Приволжском федеральном округе, и

референсными последовательностями, представленными в международной базе GenBank.

5. Оценить значение и перспективы использования генотипирования ВИЧ и филогенетического анализа нуклеотидных последовательностей генома вируса при установлении причинно-следственных связей формирования эпидемического очага ВИЧ-инфекции.

6. Выявить основные группы нарушений преаналитического этапа в рамках проводимого мониторинга резистентных штаммов и генетических вариантов ВИЧ в учреждениях службы профилактики ВИЧ-инфекции/СПИД субъектов Приволжского федерального округа. Разработать основные методические подходы и оптимизировать алгоритм проведения мероприятий преаналитического этапа данного вида исследований.

7. Научно обосновать и разработать усовершенствованную систему надзора за развитием эпидемического процесса ВИЧ-инфекции с использованием современных геоинформационных технологий на модели Приволжского федерального округа Российской Федерации.

Научная новизна

Впервые научно обоснован и разработан комплексный подход к совершенствованию системы эпидемиологического надзора за ВИЧ-инфекцией с включением в информационную и диагностическую подсистему мониторинга современных молекулярно-генетических методов и геоинформационных технологий, реализованный на модели Приволжского федерального округа Российской Федерации.

На основе ретроспективного эпидемиологического анализа и данных сероэпидемиологического мониторинга впервые дана комплексная оценка динамики, тенденций и особенностей развития эпидемического процесса ВИЧ-инфекции в масштабе ПФО за 27-летний период наблюдения (1988-2014гг.).

С использованием молекулярно-генетических методов получены новые знания о распространенности резистентных штаммов ВИЧ, структуре мутаций, определяющих вирусологическую и иммунологическую неэффективность применяемой терапии, особенностях циркуляции различных генетических вариантов вируса на административных территориях ПФО, генетических особенностях организма человека, инфицированного ВИЧ.

В международной базе данных GenBank и Российской базе данных резистентности ВИЧ к антиретровирусным препаратам зарегистрированы 283 нуклеотидные последовательности фрагментов генома российских изолятов вируса иммунодефицита человека, выделенных от ВИЧ-позитивных пациентов, проживающих в субъектах округа.

Впервые в масштабе ПФО использованы молекулярно-генетические методы (генотипирование ВИЧ, филогенетический анализ) для определения наличия/отсутствия эпидемиологической связи между исследуемыми образцами при проведении расследований в эпидемических очагах ВИЧ-инфекции.

Разработаны новые методические подходы к совершенствованию эпидемиологического мониторинга циркуляции лекарственно устойчивых штаммов ВИЧ, оптимизирован алгоритм проведения преаналитического этапа

исследований по определению резистентности вируса к АРВП, обеспечивающий высокое качество проводимого анализа, достоверность и информативность получаемых результатов.

Впервые на основе включения программных компьютерных решений в информационную подсистему эпидемиологического надзора и мониторинга актуальных инфекционных заболеваний, в т.ч. ВИЧ-инфекции, разработан и внедрен в практику работы специалистов органов и учреждений Роспотребнадзора и МЗ РФ геоинформационный проект «Электронный эпидемиологический атлас Приволжского федерального округа», включающий раздел «ВИЧ-инфекция», база данных которого является открытым государственным реестром по зарегистрированным объектам интеллектуальной собственности в РФ (№ 2015621143 от 24.07.2015г.).

Теоретическая и практическая значимость исследования

В результате проведенного исследования дано теоретическое обоснование и получено практическое подтверждение значимости и целесообразности использования комплекса молекулярно-генетических методов и геоинформационных технологий в эпидемиологическом надзоре за ВИЧ-инфекцией как дополнительных действенных инструментов мониторинга данной нозологии.

Полученные данные, характеризующие профиль устойчивости ВИЧ к АРВП, используются в практической работе специалистов территориальных центров СПИД ПФО, медицинских отделов ГУФСИН РФ по субъектам ПФО в рамках стандартов оказания первичной медико-санитарной помощи при болезни, вызванной вирусом иммунодефицита человека. Это позволяет контролировать приверженность терапии, оценивать вирусологические и иммунологические критерии ее эффективности с целью корректировки используемых схем лечения или замены на новые, совершенствовать критерии прогноза развития заболевания, разрабатывать подходы для предупреждения возникновения и дальнейшего развития резистентности ВИЧ к АРВП, подавления репликативной способности вируса, что, в конечном итоге, снижает показатели смертности и летальности от ВИЧ-инфекции и уменьшает риск передачи вируса другим людям. Результаты проведенных исследований явились основой для разработки федеральных клинических рекомендаций «Анализ лекарственной устойчивости ВИЧ», позволяющих дополнить имеющуюся нормативно-правовую базу, регламентирующую проведение преаналитического и постаналитического этапов генотипирования ВИЧ.

Выделенные в процессе работы последовательности участков генома российских изолятов ВИЧ депонированы в международную базу GenBank (мировой уровень внедрения), а также Российскую базу данных резистентности ВИЧ к антиретровирусным препаратам, что повышает представленность российских вариантов вируса в базах данных, способствуя более эффективной реализации алгоритмов генотипирования и филогенетического анализа при проведении молекулярно-эпидемиологических экспертиз.

Материалы, полученные при проведении филогенетического анализа нуклеотидных последовательностей генома ВИЧ, выделенных от инфицированных

пациентов, явились важным дополнением и объективным доказательством установления возможного источника инфекции в эпидемических очагах ВИЧ-инфекции. Данный методологический подход используется для оказания практической помощи органам здравоохранения, учреждениям Роспотребнадзора, следственным органам МВД субъектов ПФО.

Разработанный электронный эпидемиологический атлас Приволжского федерального округа, включающий раздел «ВИЧ-инфекция», внедрен в практическую работу специалистов органов и учреждений Роспотребнадзора, в учебный процесс кафедры эпидемиологии ФГБОУ ВО НижГМА Минздрава России при подготовке студентов медико-профилактического, лечебного, стоматологического и педиатрического факультетов, интернов, клинических ординаторов, что позволило повысить уровень эпидемиологической диагностики, расширить методическую базу проведения эпидемиологического мониторинга различных нозологий инфекционного генеза и, как следствие, осуществлять своевременное и эффективное проведение соответствующих профилактических и противоэпидемических мероприятий, направленных на снижение уровня заболеваемости населения. Материалы атласа используются аппаратом полномочного представителя Президента Российской Федерации по Приволжскому федеральному округу при осуществлении контроля мер, предпринимаемых регионами округа по предупреждению распространения ВИЧ-инфекции, а также для оценки угроз в данной сфере.

Разработанные подходы расширяют возможности классического мониторинга ВИЧ-инфекции, позволяя совершенствовать систему эпидемиологического надзора данной нозологии в части, касающейся его диагностической и информационной составляющей.

Методология и методы исследования

Методологической основой исследования послужили труды отечественных и зарубежных специалистов, характеризующие проявления эпидемического процесса ВИЧ-инфекции в контексте применения современных лабораторных методов и компьютерных геоинформационных систем в мониторинге данной нозологии. При разработке методических подходов к биологической характеристике вируса приоритет был отдан методам, основанным на генотипировании ВИЧ.

Проанализированы эпидемиологические и генетические особенности взаимодействия возбудителя инфекции и организма человека, определившие частоту распространения резистентных штаммов и спектр циркулирующих генетических вариантов ВИЧ-1 в субъектах ПФО. Применение алгоритмов генотипирования и филогенетического анализа на основе нуклеотидных последовательностей генома ВИЧ легли в основу выработанных подходов к проведению молекулярно-эпидемиологических экспертиз в эпидемических очагах ВИЧ-инфекции.

В ходе выполнения исследования использованы данные международных баз, интегрирующих сведения о штаммах ВИЧ, циркулирующих в различных странах мира.

Ретроспективный анализ проводился с использованием данных официальных отчетных форм, применяемых в эпидемиологическом надзоре за ВИЧ-инфекцией, на основе общепринятой методики, включающей анализ структуры и уровня инфекционной заболеваемости, многолетней динамики эпидемического процесса, анализ заболеваемости ВИЧ-инфекцией по факторам риска заражения. Итогом ретроспективного анализа явилась постановка эпидемиологического диагноза.

Для создания раздела «ВИЧ-инфекция» электронного эпидемиологического атласа ПФО использовались современные компьютерные технологии на основе геоинформационных систем.

В работе применены общенаучные подходы и специальные методы научного познания классической эпидемиологии (описательные, аналитические, эпидемиологические и статистические методы).

Положения, выносимые на защиту

1. Различная степень интенсивности эпидемического процесса ВИЧ-инфекции в субъектах ПФО обусловила значимые различия эпидемиологической обстановки и ее детерминант, в том числе в разные периоды развития эпидемии ВИЧ-инфекции в округе. Значительная напряженность эпидемического процесса ВИЧ-инфекции в ПФО в целом, и на ряде территорий в частности, определяется высоким социально-экономическим потенциалом округа.

2. Современные молекулярно-генетические методы служат основой для мониторинга лекарственной устойчивости штаммов вируса иммунодефицита человека, позволяя определять распространенность первичной и вторичной резистентности ВИЧ к АРВП, высокоинформативны и незаменимы при проведении эпидемиологических расследований сложных и спорных случаев заражения ВИЧ. Применение новейших лабораторных методов является дополнительным инструментом для разработки методологии оценки и мониторинга текущей эпидемиологической ситуации и прогнозирования эпидемиологических рисков.

3. Сравнительный филогенетический анализ нуклеотидных последовательностей штаммов ВИЧ, циркулирующих в регионах Приволжского федерального округа, и референсных образцов из международной базы GenBank позволяет выявить наличие молекулярных связей между ними, определяя территориальные особенности распространения генетически обособленных групп ВИЧ-1 субтипов А, В, С, AG, АВ, CRF06_cpx, являющихся результатом единичных и множественных независимых заносов из различных стран мира и регионов России, подтвержденных результатами эпидемиологических расследований.

4. Использование электронного эпидемиологического атласа ПФО как дополнительного информационного элемента эпидемиологического надзора за ВИЧ-инфекцией повышает качество эпидемиологической диагностики, максимально объективизирует пространственную характеристику заболеваемости ВИЧ-инфекцией в субъектах ПФО. Применение геоинформационных технологий в мониторинге ВИЧ-инфекции способствует оптимизации и совершенствует

классический эпидемиологический надзор, расширяя его информационное наполнение и повышая его технологический уровень.

Степень достоверности и апробация работы

О достоверности результатов, полученных в ходе работы, свидетельствуют: анализ большого объема статистических данных по многолетней (27 лет) динамике заболеваемости ВИЧ-инфекцией, в том числе оценка данных сероэпидемиологического мониторинга населения ПФО в масштабе 14 его субъектов; использование современных лабораторных методов исследования, характеризующихся высокой чувствительностью, специфичностью и объективностью, поддерживаемых форматом программного обеспечения используемого оборудования; проведение молекулярно-генетического мониторинга резистентных штаммов и генетических вариантов ВИЧ с использованием значительного количества первичного материала, репрезентативных выборок, углубленного статистического анализа полученных результатов. Результаты работы представлены в заключительных отчетах о выполнении НИР, зарегистрированных во ФГАНУ «Центр информационных технологий и систем органов исполнительной власти»: №01201175716 (2011-2015гг.), № 01201175707 (2011-2015гг.).

В результате проведенной работы депонировано 283 нуклеотидные последовательности участков генома изолятов вируса иммунодефицита человека в международной базе GenBank (JX 141197-JX 141233; KF257850-KF257884; KJ722070 - KJ722139; KP090065-KP090099; KT121451-121464; KY052009-KY052023; MG063795- MG063809) и Российской базе данных устойчивости ВИЧ к антиретровирусным препаратам (№№ 344, 447, 452, 456, 459, 461, 462, 466, 467-469, 471, 478, 485, 488, 490-492, 494, 624, 632, 633, 639, 667, 680, 683-687, 689, 693, 694, 696-697, 700, 702-706, 717, 724, 726, 728, 731-733, 736, 745-746, 741-742, 774, 810, 854, 1195-1196, 1198, 1204, 1217).

Основные положения работы и полученные данные доложены на заседании и включены в решение коллегии Роспотребнадзора «О деятельности ФБУН «Нижегородский научно исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. академика И.Н. Блохиной» Роспотребнадзора за 2012-2014гг. (протокол №2 от 06.03.2015г.); на заседаниях Ученого Совета и межлабораторного семинара ФБУН ННИИЭМ им. академика И.Н. Блохиной Роспотребнадзора (2011-2017гг.).

Материалы диссертации используются при подготовке ежеквартальных информационных бюллетеней Приволжского окружного центра по профилактике и борьбе со СПИД, направляемых в Федеральный научно-методический центр и окружные центры по профилактике и борьбе со СПИД, территориальные центры СПИД ПФО, управление Федеральной службы по контролю за оборотом наркотиков по ПФО (2006-2016гг.).

Результаты проведенных исследований использованы при разработке федеральных клинических рекомендаций «Анализ лекарственной устойчивости ВИЧ», информационно-методического письма «Совершенствование преаналитического этапа молекулярной диагностики в надзоре за резистентностью ВИЧ к АРВ-препаратам»; аналитического обзора «Современные молекулярно-

генетические методы исследования в эпидемиологическом надзоре за ВИЧ-инфекцией» (2012-2017гг.); внедрены в практическую работу Управлений Роспотребнадзора по субъектам ПФО и ФБУЗ «Центры гигиены и эпидемиологии» в 14 субъектах ПФО; территориальных центров СПИД ПФО; используются в учебном процессе кафедры эпидемиологии ФГБОУ ВО НижГМА Минздрава России (акты внедрения 2015-2017гг.). Материалы диссертации используются аппаратом полномочного представителя Президента Российской Федерации в Приволжском федеральном округе при осуществлении контроля мер, предпринимаемых субъектами округа, по предупреждению распространения ВИЧ-инфекции, а также для оценки угроз в данной сфере и принятия соответствующих управленческих решений (акт внедрения № А53-2207 от 31.03.2017г.).

Материалы диссертации доложены и обсуждены на ряде научных форумов, совещаний и конференций: I Научно-практической конференции ПФО «Актуальные вопросы эпидемиологии, клиники, диагностики, лечения и профилактики ВИЧ-инфекции/ СПИДа в ПФО» (Ижевск, 2003); семинаре «Разработка и внедрение в систему эпидемиологического надзора за ВИЧ-инфекцией дозорных сероэпидемиологических и поведенческих исследований в группах лиц с рискованным поведением» (Санкт-Петербург, 2003); семинаре-тренинге «Методы проведения оценки распространенности и прогнозирования развития эпидемии ВИЧ/СПИДа» (Санкт-Петербург, 2003, 2006); Международной Российско-Канадской конференции «Российская сеть по борьбе с ВИЧ-инфекцией» (Москва, 2004); окружной научно-практической конференции «Проблемы диагностики, лечения и профилактики ВИЧ-инфекции и вирусных гепатитов в ПФО и пути их решения» (Киров, 2004); рабочем совещании главных врачей территориальных центров по профилактике и борьбе со СПИД ПФО «Результаты и перспективы реализации государственной политики по противодействию распространения ВИЧ/СПИД и гепатитов В и С» (Н. Новгород, 2009); научно-практической конференции «Межведомственное взаимодействие и социальное партнерство в профилактике ВИЧ-инфекции» (Киров, 2011); Всероссийском совещании «Эпидемиологический надзор за распространенностью и резистентностью ВИЧ к антиретровирусным препаратам и предупреждение ее развития» (Ярославль, 2011); Всероссийском совещании «Совершенствование надзора за эффективностью противоэпидемических мероприятий, осуществляемых в рамках противодействия распространения ВИЧ-инфекции» (Суздаль, 2011); Межрегиональной научно-практической конференции «Передовые технологии в профилактике инфекционных и неинфекционных болезней» в рамках XII Международного медицинского форума (Н. Новгород, 2011); Региональной научно-практической конференции «Научное обеспечение противоэпидемической защиты населения» в рамках XIII Международного медицинского форума «Стандарты и порядки медицинской помощи, как основа повышения эффективности здравоохранения» (Н. Новгород, 2012); Областной конференции «ВИЧ-инфекция. Современные вызовы и перспективы» (Киров, 2012); VII Ежегодной Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Здоровье-основа человеческого потенциала: проблемы и пути решения» (Санкт-Петербург, 2012); Всероссийском совещании «Эпидемиологический мониторинг, итоги реализации мероприятий, направленных

на профилактику, выявление и лечение ВИЧ-инфекции, гепатитов В и С в рамках приоритетного национального проекта» (Суздаль, 2013); Всероссийском совещании «Выявление источников ВИЧ-инфекции и организация противоэпидемических мероприятий» (Суздаль, 2013); Всероссийском совещании «Эпидемиологический надзор за ВИЧ-инфекцией, в т.ч. за сочетанными формами ВИЧ-инфекции и туберкулеза и предупреждение их возникновения» (Суздаль, 2014); рабочем совещании специалистов службы профилактики ВИЧ-инфекции/СПИД ПФО «Актуальные вопросы профилактики, диагностики и лечения ВИЧ-инфекции» (Н. Новгород, 2014); Всероссийской научно-практической конференции, посвященной 95-летию ФБУН ННИИЭМ им. академика И.Н. Блохиной Роспотребнадзора «Инновационные технологии в противоэпидемической защите населения» в рамках XV Международного медицинского форума «Качество и безопасность оказания медицинской помощи» (Н. Новгород, 2014); межрегиональной научно-практической конференции эпидемиологов ПФО «Профилактика актуальных инфекционных и неинфекционных болезней в условиях оптимизации здравоохранения» в рамках XVI Международного медицинского форума «Качество и безопасность оказания медицинской помощи» (Н. Новгород, 2015); региональном совещании «Изучение положительного опыта использования электронного эпидемиологического атласа ПФО в организации и проведении эпиднадзора за актуальными инфекциями» (Н. Новгород, 2015); Республиканской конференции «Вопросы профилактики и лечения ВИЧ-инфекции» (Уфа, 2015); Всероссийском совещании «О дополнительных мерах по реализации поручений Правительственной комиссии по охране здоровья граждан по вопросу предупреждения распространения ВИЧ-инфекции в Российской Федерации» (Суздаль, 2015); Всероссийской научно-практической конференции с сессией молодых ученых «Современные технологии в эпидемиологическом надзоре за актуальными инфекциями» в рамках XVII Международного медицинского форума «Качество и безопасность медицинской помощи» (Н. Новгород, 2016); II Российском конгрессе лабораторной медицины (Москва, 2016), Всероссийском совещании «Эпидемиологический надзор за ВИЧ-инфекцией. Профилактика ВИЧ-инфекции (Суздаль, 2017); VII межрегиональной научно-практической конференции специалистов лабораторной службы Приволжского федерального округа «Лабораторная медицина - взгляд в будущее» и окружной научно-практической конференции «Эпидемиологическая безопасность медицинской помощи и противоэпидемическое обеспечение населения» в рамках XVIII Международного медицинского форума «Качество и безопасность оказания медицинской помощи» (Н. Новгород, 2017); VIII Всероссийской научно-практической конференции «Инфекционные болезни как междисциплинарная проблема – вчера, сегодня, завтра» (Н. Новгород, 2017); межрегиональной научно-практической конференции «Актуальные вопросы ВИЧ-инфекции и других инфекционных заболеваний» (Киров, 2017); Всероссийском совещании «Разработка комплексных подходов по эпидемиологическому надзору и противоэпидемическим мероприятиям по ВИЧ-инфекции и вирусным гепатитам В и С» (Суздаль, 2017).

Диссертационная работа апробирована на расширенном заседании Ученого совета ФБУН ННИИЭМ им. академика И.Н. Блохиной Роспотребнадзора (протокол № 5 от 30 мая 2017г.).

Публикации

По материалам диссертации опубликовано 47 печатных работ, в том числе 18 статей в изданиях, включенных в «Перечень ведущих рецензируемых научных журналов, рекомендуемых ВАК Российской Федерации», одна статья в зарубежном журнале. Получено свидетельство о государственной регистрации базы данных «Электронный эпидемиологический атлас Приволжского федерального округа» (№ 2015621143 от 24.07.2015г.).

Структура и объем диссертации

Диссертационная работа состоит из введения, 3 глав обзора литературы, 5 глав собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка цитируемой литературы и приложений. Диссертация иллюстрирована 61 рисунком и 27 таблицами, изложена на 378 страницах машинописного текста. Библиографический указатель включает 318 источников литературы (189 отечественных и 129 иностранных).

Персональный вклад автора

Автор является руководителем и ответственным исполнителем научно-исследовательских работ «Современные аспекты эпидемиологического надзора за ВИЧ-инфекцией в Приволжском федеральном округе» и «Молекулярно-генетический мониторинг и социальные аспекты профилактической работы в эпидемиологическом надзоре за ВИЧ-инфекцией в ПФО», в рамках которых выполнено настоящее исследование. Все разделы диссертации, включая идею работы, постановку цели, определение задач, разработку методических подходов к объему и структуре проводимых исследований, сбор, анализ и обработку полученных результатов, их обобщение и интерпретацию для написания рукописи, формулирование научной новизны, выводов, внедрение в практику выполнены автором лично. Автор является непосредственным разработчиком раздела «ВИЧ-инфекция» электронного эпидемиологического атласа ПФО, созданного во ФБУН ННИИЭМ им. академика И.Н. Блохиной Роспотребнадзора.

Содержание работы

Материалы и методы исследования

Работа выполнена в рамках НИР «Современные аспекты эпидемиологического надзора за ВИЧ-инфекцией в Приволжском федеральном округе» (номер государственной регистрации 01201175716) и «Молекулярно-генетический мониторинг и социальные аспекты профилактической работы в эпидемиологическом надзоре за ВИЧ-инфекцией в ПФО» (номер государственной регистрации АААА-А16-116040810136-1). Исследование носило комплексный многоэтапный характер, включало в себя эпидемиологические (описательные и аналитические), серологические, иммунологические, генетические и геоинформационные исследования в масштабе 14 административных территорий ПФО: республики - Башкортостан, Марий Эл, Мордовия, Татарстан; Удмуртская

Республика, Чувашская Республика; области - Кировская, Нижегородская, Оренбургская, Пензенская, Самарская, Саратовская, Ульяновская; Пермский край.

Изучены закономерности развития эпидемического процесса ВИЧ-инфекции за 27-летний период (с 1988г. по 2014г.). Оценка параметров эпидемии ВИЧ-инфекции в ПФО включала ретроспективный эпидемиологический анализ многолетней заболеваемости ВИЧ-инфекцией. Наблюдением охвачено 201906 ВИЧ-инфицированных лиц, выявленных за анализируемый период, и 30774 ребенка с перинатальным контактом по ВИЧ. Проанализированы данные, полученные из 14 территориальных центров СПИД округа о качественных и количественных показателях эпидемического процесса: инцидентность, пораженность, распространенность, смертность, летальность, темп прироста новых случаев ВИЧ-инфекции, удельный вес путей инфицирования ВИЧ-положительных лиц, поло-возрастная и социальная структура ВИЧ-инфицированных, число детей с перинатальным контактом по ВИЧ с расчетом экстенсивных (доля в структуре путей передачи, возрастной структуре и пр.) и интенсивных (частота реализации) показателей. Для установления эпидемических тенденций в динамике многолетней заболеваемости ВИЧ-инфекцией, использовался метод наименьших квадратов, расчет показателей прямолинейной тенденции проводился по формуле ($y=a+bx$).

Для оценки интенсивности эпидемического процесса анализировали данные, представленные территориальными центрами СПИД ПФО, о структуре обследования населения округа на маркеры ВИЧ-инфекции за 1988-2014гг. Выявление ВИЧ-инфицированных среди населения ПФО осуществляли с помощью традиционного серологического скрининга с использованием метода ИФА для выявления антител к ВИЧ и вирусных антигенов, а также провирусной ДНК и вирусной РНК ВИЧ методом ПЦР. Все исследования проводили с использованием тест-систем, официально разрешенных к применению в РФ.

В работе использовали материалы официальной статистики МЗ РФ, Роспотребнадзора; данные, представленные территориальными центрами СПИД ПФО: оперативные донесения о выявленных ВИЧ-инфицированных лицах (форма 266/у-88), карты эпидемиологического расследования случаев ВИЧ-инфекции, медицинские карты амбулаторного больного, форму Федерального государственного статистического наблюдения №61 «Сведения о контингентах больных ВИЧ-инфекцией», утвержденную Постановлением Госкомстата России от 29.06.99г. №49, форму № 4 «Сведения о результатах исследований крови на антитела к ВИЧ», утвержденную Постановлением Госкомстата России №30 от 05.05.99г., форму Приоритетного национального проекта «Сведения о мероприятиях по профилактике ВИЧ-инфекции, гепатитов В и С, выявлению и лечению больных ВИЧ», ежемесячные отчеты о выявленных ВИЧ-инфицированных лицах на территориях округа. Для сравнительной характеристики эпидемического процесса ВИЧ-инфекции в ПФО и РФ использовали материалы, изложенные в информационных бюллетенях Федерального научно-методического центра по профилактике и борьбе со СПИД, ФБУН ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора.

В целом, молекулярно-генетические, иммунологические исследования и филогенетический анализ проводили с 951 образцом биоматериала от ВИЧ-

инфицированных лиц, как получающих терапию, так и АРВТ-«наивных», из 17 субъектов РФ и двух стран СНГ за период 2008-2015гг. Исследования осуществляли на базе лаборатории молекулярно-генетических и серологических методов исследования Приволжского окружного центра по профилактике и борьбе со СПИД ФБУН ННИИЭМ им. академика И.Н. Блохиной Роспотребнадзора. Качество исследований лаборатории по разделам ИФА, ПЦР, проточной цитофлюорометрии ежегодно подтверждалось участием в программах внешнего контроля качества исследований: VQC, VQC Acrometrics – Нидерланды (2004-2006гг.); ФСВОК (2007-2016гг.).

Исследования по идентификации генетических мутаций, ассоциированных с резистентностью ВИЧ к АРВП, включали определение нуклеотидных последовательностей генома вируса при помощи тест-систем ViroSeq™ HIV-1 Genotyping System (Celera Diagnostic, Abbott Laboratories, США) и «АмплиСенс HIV-Resist-Seq» (ФБУН ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, Россия) методом секвенирования амплифицированных фрагментов гена *pol* ВИЧ с использованием семи праймеров, включенных в комплект с терминатором сиквенсовой реакции BigDye (Sequencing Module - BigDye v.3.1), на генетическом анализаторе ABI Prism 3100 «Applied Biosystems», США. Обработку данных секвенирования, получение консенсусной последовательности и дальнейший анализ осуществляли с помощью аналитического программного обеспечения «ViroSeq HIV-1 Genotyping System Software» v.2.8 (Celera, США) и «ДЕОНА» (ООО «МедАйТи Групп», Россия) и базы данных Стэнфордского университета (<http://hivdb.stanford.edu>) для определения профиля мутаций устойчивости ВИЧ к различным группам АРВП. Для определения генетического разнообразия субтипов ВИЧ-1, циркулирующих в субъектах ПФО в период 2008-2014гг., применяли программное обеспечение «COMET HIV-1/2 and HCV» и «REGA HIV-1 Sybtyping Tool v.2.0».

Филогенетический анализ и расчет генетических дистанций при проведении лабораторного этапа эпидемиологического расследования с целью определения наличия/отсутствия генетической связи между исследуемыми образцами (12 образцов) в пяти эпидемических очагах ВИЧ-инфекции выполняли с помощью программы MEGA 5.2 с использованием статистического метода Maximum Likelihood analysis, 2-х параметрической модели Kimura (bootstrap level 1000). Анализ проводили на основании нуклеотидных последовательностей штаммов ВИЧ по участку гена протеазы (*pro*) и обратной транскриптазы (*rev*) ВИЧ. В качестве группы сравнения использовали нуклеотидные последовательности, выделенные из образцов плазмы крови инфицированных ВИЧ пациентов субъектов ПФО, хранящиеся в рабочей коллекции Приволжского окружного центра по профилактике и борьбе со СПИД ФБУН ННИИЭМ им. академика И.Н. Блохиной Роспотребнадзора, и из международной базы данных GenBank (всего 151 образец). Для идентификации близкородственных штаммов ВИЧ полученные нуклеотидные последовательности анализировали в программе BLAST [<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/>].

Оценка иммунного статуса у 143 ЛЖВ, содержащихся в учреждениях пенитенциарной системы ГУФСИН РФ по субъектам ПФО из шести регионов РФ

и двух стран СНГ, включала количественный анализ (относительное и абсолютное содержание) субпопуляционного состава Т-лимфоцитов периферической крови, индекса CD4/CD8. Исследования выполняли методом проточной цитометрии на цитофлуориметре «Becton Dickinson» FACS Canto II с использованием набора «Multitest CD3/CD8/CD45/CD4w Trucount Se», содержащим пробирки с моноклональными антителами и референсными частицами известной концентрации. При добавлении в пробирку цельной крови, последующей инкубации и добавлении фиксирующего вещества программное обеспечение цитофлуориметра идентифицировало имеющуюся в исследуемом образце популяцию Т-лимфоцитов с последующим формированием результирующего отчета.

Для выявления РНК ВИЧ у этой же группы заключенных ЛЖВ использовали тест-систему «АмплиСенс ВИЧ-Монитор-FRT» (ФБУН ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, Россия). Принцип метода основывается на экстракции РНК из плазмы крови, проведении реакции обратной транскрипции РНК и амплификации кДНК с гибридизационно-флуоресцентной детекцией в режиме «реального времени» (формат FRT). При помощи калибровочных образцов с известной концентрацией (ДНК-калибраторов) и калибровочной прямой определяли концентрацию РНК ВИЧ в исследуемых образцах.

Для выявления аллели HLA-B*5701 использовали цельную кровь 309 ВИЧ-инфицированных пациентов, проживающих в пяти регионах ПФО. Принцип тестирования основывался на выделении тотальной ДНК человека, проведении амплификации участка локуса В главного комплекса гистосовместимости и участка гена *b*-глобина человека методом полимеразной цепной реакции с гибридизационно-флуоресцентной детекцией в режиме «реального времени». Для выделения ДНК из лейкоцитов крови использовали комплект реагентов «Рибо-преп вариант 100» (ФБУН ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, Россия), для выявления аллели HLA-B*5701 в клиническом материале - набор реагентов «АмплиСенс Геноскрин HLA B5701-FL» (ФБУН ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, Россия) с аналитической чувствительностью - 10^3 клеток/мл. Положительный результат тестирования определяли в случае обнаружения аллели HLA-B*5701 как в гомо-, так и в гетерозиготном состоянии.

Для анализа мероприятий по организации преаналитического этапа в исследованиях по надзору за лекарственной устойчивостью ВИЧ в субъектах ПФО осуществляли комплексную программу, разработанную непосредственно при участии автора. Теоретическая часть программы представляла собой дистанционное несвязанное анонимное тестирование уровня знаний 112 сотрудников 14 территориальных центров СПИД ПФО с помощью анкеты «Особенности преаналитического этапа при выполнении молекулярно-генетических и иммунологических исследований». Анкета содержала 29 вопросов и варианты ответов к ним, касающихся организации как долабораторного, так и лабораторного разделов преаналитического этапа молекулярно-генетических и иммунологических исследований ВИЧ-инфекции. Результаты анкетирования были подвергнуты статистическому анализу. Практическая часть программы заключалась в анализе содержательной части 948 направлений на исследование лекарственной устойчивости ВИЧ и 285 медицинских карт амбулаторных больных

с целью выяснения полноты охвата, корректности назначения теста на резистентность ВИЧ к АРВП, соблюдения кратности лабораторных обследований пациентов в рамках выполнения стандартов оказания первичной медико-санитарной помощи ВИЧ-инфицированным пациентам. Данную часть программы осуществляли непосредственно при выездах в субъекты ПФО (Удмуртская и Чувашская республики, Мордовия, Башкортостан, Кировская, Оренбургская, Самарская, Пензенская, Ульяновская области).

Геоинформационный проект «Электронный эпидемиологический атлас Приволжского федерального округа» (раздел «ВИЧ-инфекция») разработан во ФБУН ННИИЭМ им. академика И.Н. Блохиной Роспотребнадзора при непосредственном участии автора. Для создания, функционирования и пополнения базы данных электронного эпидемиологического атласа ПФО использовались данные статистической отчетности территориальных управлений Роспотребнадзора по субъектам ПФО и ФБУЗ «ЦГиЭ в субъектах ПФО», территориальных центров СПИД 14 субъектов округа за период 1996-2015гг. Основу атласа составляет база данных, содержащая, в виде связанных между собой таблиц, информацию по пространственной и временной динамике заболеваемости различными актуальными для округа инфекционными заболеваниями. Раздел электронного эпидемиологического атласа ПФО «ВИЧ-инфекция» представлен электронными картами в цветовой градации, отражающей уровни заболеваемости, пораженности, смертности и летальности от ВИЧ-инфекции, результаты молекулярно-генетического мониторинга штаммов ВИЧ, выделенных от инфицированных лиц округа. Графически отражены качественные характеристики эпидемии и многолетняя динамика заболеваемости ВИЧ-инфекцией в субъектах ПФО.

Полученные в работе результаты подвергались статистической обработке на базе интегрированного пакета прикладной программы «Microsoft Office Excel 2010» с использованием методов вариационной статистики, корреляционно-регрессионного анализа, вычислением средней ошибки (m). Оценка степени различия двух выборок проводилась с помощью критерия Стьюдента (t). Выявленные различия считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты собственных исследований и их обсуждение

Основным механизмом, позволяющим многоаспектно определять тенденции развития эпидемического процесса ВИЧ-инфекции, динамически отслеживать охват населения профилактикой, диспансерным наблюдением, лечением; оценивать исходы и тяжесть течения заболевания и эффективность проводимых профилактических и противоэпидемических мероприятий, является эпидемиологический надзор. Современные особенности эпидемического процесса ВИЧ-инфекции в РФ, в том числе и в ПФО (продолжительное развитие эпидемии во времени, широкомасштабное применение АРВТ, рост случаев инфицирования ВИЧ при оказании медицинской помощи, значительная миграционная нагрузка и рост международного туризма, активные научные разработки для создания вакцины, новых диагностикумов и лечебных препаратов и др.) диктуют необходимость расширения классической системы эпидемиологического надзора современными молекулярно-генетическими методами, а использование

программных компьютерных решений дает возможность создания единого информационного пространства в масштабе ПФО для проведения всестороннего эпидемиологического анализа.

Вышеизложенное нашло отражение в результатах представленного исследования.

Эпидемический процесс ВИЧ-инфекции в ПФО, согласно результатам проведенного ретроспективного анализа многолетней (27 лет) динамики заболеваемости, прошел два периода развития: предэпидемический (1988-1995гг.) и период эпидемии (1996-2014гг.) (рисунок 1).

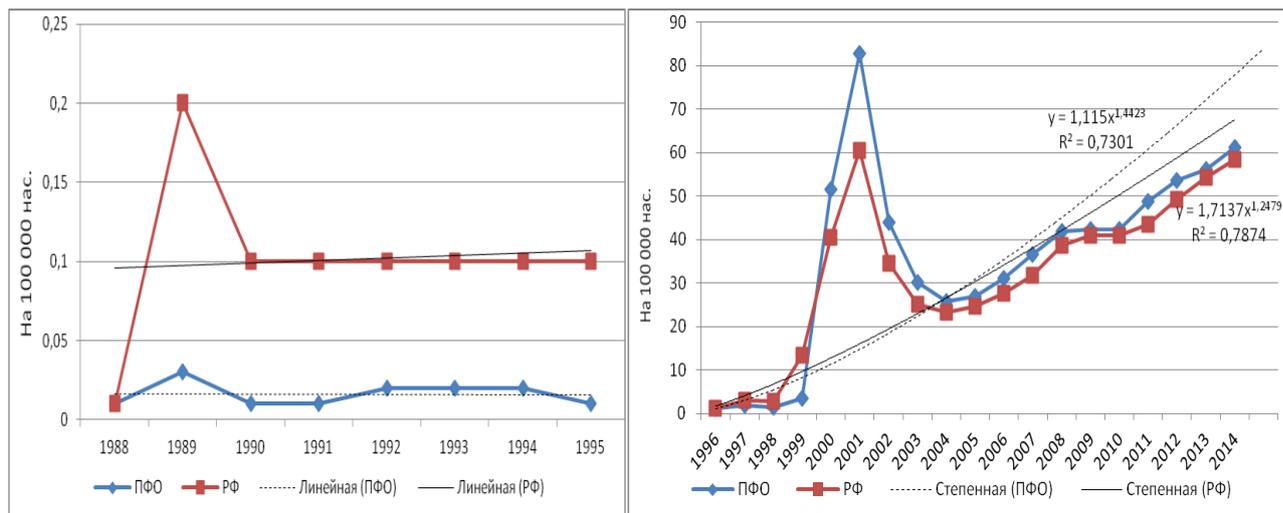


Рисунок 1 – Динамика заболеваемости ВИЧ-инфекцией в ПФО в предэпидемический период (1988-1995гг.) (1а) и период эпидемии (1996-2014гг.) (1б)

Предэпидемический период 1988-1995гг. носил спорадический характер со стабильно низкими показателями заболеваемости на незначительной части территорий округа ($T_{\text{пр.ср.}} = -0,125\%$), не превышающими федеральный уровень (рисунок 1а). Характеризовался доминированием полового пути передачи ВИЧ, в том числе с высокой пораженностью ВИЧ-инфекцией группы мужчин с гомосексуальной идентичностью; выявлением значительной доли социально активных ЛЖВ в возрастной когорте старше 30 лет; единичными случаями смертей вследствие ВИЧ-инфекции.

Интенсивность эпидемического процесса ВИЧ-инфекции в период 1996-2014гг. носит характер эпидемии с концентрацией эпидемического процесса в среде ПИН и дальнейшим распространением вируса в общую популяцию населения с признаками генерализации эпидемии в ряде субъектов округа. Характеризуется выраженной тенденцией к росту заболеваемости ($T_{\text{пр.ср.}} = +7,0\%$), а также показателями инцидентности и пораженности, превышающими среднероссийский уровень, начиная с 2000г. ($p < 0,05$) (рисунок 1б). В течение периода 1996-2014гг. отмечено вовлечение в эпидемический процесс всех субъектов округа, возрастных и социальных групп населения, механизмов и путей передачи вируса, характерных для данной нозологии, а также рост показателей смертности и летальности среди ВИЧ-инфицированных.

ПФО является территорией с очень высоким уровнем пораженности населения ВИЧ-инфекцией, к концу анализируемого периода в регионах округа зарегистрировано свыше 200 000 случаев инфицирования ВИЧ, составляя пятую часть (20,7%) всех ВИЧ-позитивных жителей России. В целом, 0,54% населения округа поражено ВИЧ-инфекцией, а в трех субъектах (Самарская, Оренбургская области, Пермский край) данный показатель превысил 1%. Уровень «урбанизации» населения ПФО, превышающий 70%; соседство с наиболее экономически развитыми и «ресурсными» регионами страны (Центральный и Уральский федеральные округа, европейский север); наличие грузонапряженных железнодорожных и автомобильных магистралей, соединяющих субъекты округа с государствами Европы, регионами Сибири и Дальнего Востока, странами Восточной и Средней Азии; географическое расположение на пересечении крупнейшей речной артерии страны – реки Волги и, части территорий округа, на маршрутах транзита наркотиков обуславливают определенную «привлекательность» для наркоиндустрии и, как следствие, - высокие показатели распространенности ВИЧ-инфекции в большинстве субъектов ПФО. Значительный период развития эпидемии во времени, высокие уровни пораженности населения на большинстве территорий округа, низкая приверженность терапии пациентов, особенно среди стажированных наркопотребителей, обусловили выраженную тенденцию роста показателей смертности ВИЧ-позитивных на протяжении всего периода развития эпидемии в округе, достоверно превышающие таковые по РФ ($p < 0,05$). Территориальное распределение показателя смертности ВИЧ-позитивных лиц во всех субъектах округа также характеризуется выраженной тенденцией к росту, особенно заметной в последние годы наблюдения.

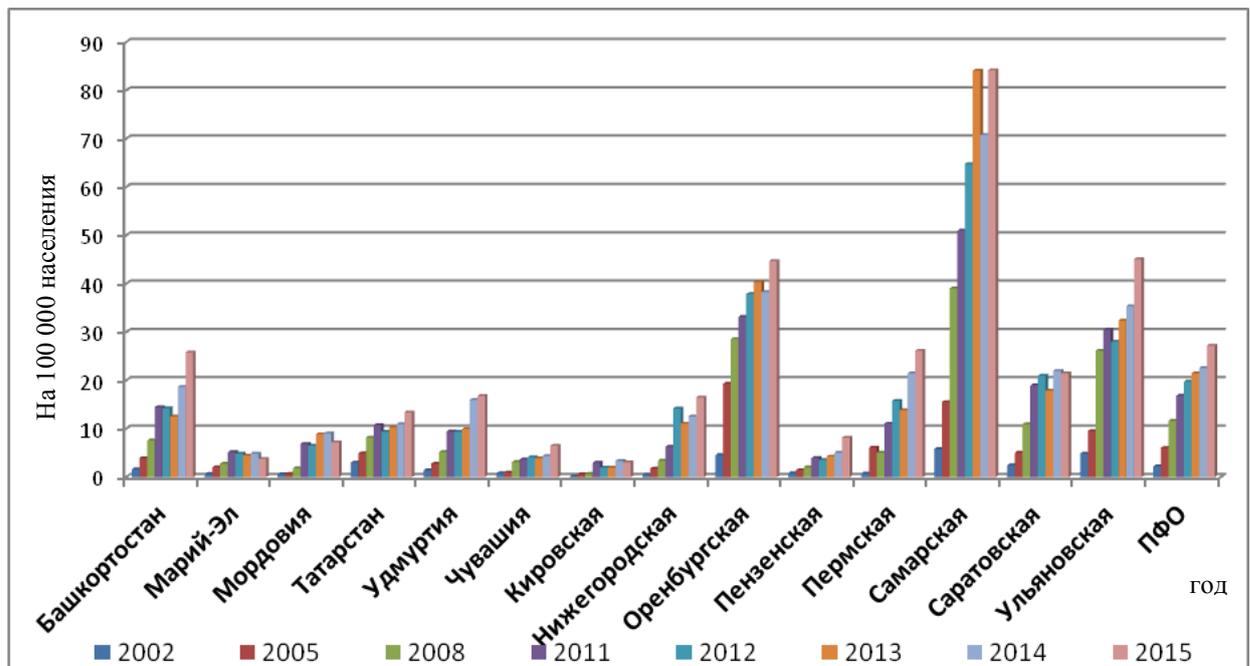


Рисунок 2 – Территориальная динамика показателей смертности ВИЧ-инфицированных в субъектах ПФО

Три субъекта ПФО (Самарская, Ульяновская и Оренбургская области), характеризующиеся значительными показателями заболеваемости и очень высокой пораженностью населения, имели уровень смертности среди ВИЧ-инфицированных, значительно превышающий средний по округу во все годы наблюдения ($p < 0,05$) (рисунок 2).

Благодаря широкому внедрению АРВТ выживаемость ВИЧ-позитивных пациентов в целом увеличилась, вместе с тем, согласно нашим исследованиям, летальные исходы в субъектах ПФО регистрировались и у лиц, получающих АРВТ. Данный показатель, в среднем, ежегодно регистрировался на уровне $5,3 \pm 1,1\%$. Наиболее важным фактором, обусловившим неэффективность лечения у умерших больных, является, в том числе, и позднее начало АРВТ при наличии у пациентов уже выраженного иммунодефицита и клинических проявлений заболевания. Это подтверждается значительной долей вновь выявленных ЛЖВ, находящихся в поздних стадиях болезни, от числа взятых под наблюдение в округе (до $28,4\%$ в 2014г.). Результаты наших исследований свидетельствуют о том, что среди пациентов, взятых на диспансерное наблюдение в поздних сроках заболевания, $50\%-60\%$ начали прием АРВП с числом CD4+ клеток менее 200 и, в ряде случаев, менее 50 в мкл.

Сложившаяся ситуация предполагает необходимость более активного выявления и постановки на диспансерный учет пациентов, удержание их в системе наблюдения, своевременного назначения АРВТ с обязательным контролем ее эффективности, тщательного мониторинга приверженности лечению и проведения надзора за развитием лекарственной устойчивости ВИЧ. Данные направления мониторинга соответствуют мероприятиям по достижению целевых показателей реализации Государственной Стратегии противодействия распространению ВИЧ-инфекции в РФ на период до 2020 года и дальнейшую перспективу (2016г.).

Проведенный анализ сведений, представленных территориальными центрами СПИД ПФО, позволил оценить динамику доли умерших от ВИЧ-инфекции в общей структуре умерших от всех причин (таблица 1).

Таблица 1 – Динамика доли летальных исходов от ВИЧ-инфекции от общего числа умерших ВИЧ-инфицированных в ПФО в 2005-2014гг.

Годы	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014
Доля умерших вследствие ВИЧ-инфекции (%)	17,8 $\pm 1,1$	19,6 $\pm 3,2$	23,6 $\pm 2,7$	21,9 $\pm 1,9$	22,1 $\pm 2,1$	18,6 $\pm 2,4$	22,1 $\pm 3,0$	19,3 $\pm 0,7$	20,3 $\pm 1,8$	26,9 $\pm 2,8$

Установлено, что данный показатель характеризуется незначительными колебаниями роста-снижения, находясь в пределах $18-23\%$ в течение периода наблюдения, достигая максимального значения ($26,9 \pm 2,8\%$) в 2014г. В дальнейшем, учитывая значительный период времени развития эпидемического процесса ВИЧ-инфекции, увеличение числа ЛЖВ, имеющих вторичные

заболевания, можно предположить, что доля летальных исходов от ВИЧ-инфекции будет увеличиваться, что нашло подтверждение в результатах настоящего исследования. Согласно полученным данным, показатели летальности в округе в 2008-2014 гг. имели тенденцию к росту, превышая общероссийские показатели, начиная с 2010 г. ($p < 0,05$). В целом, анализ и оценка сведений, касающихся смертности ВИЧ-инфицированных, являются важными критериями для получения эпидемиологической информации, позволяющей объективно характеризовать течение заболевания и оценивать эффективность мероприятий по диспансерному наблюдению и лечению ВИЧ-положительных пациентов.

Сероэпидемиологический мониторинг и оценка тестирования населения на ВИЧ-инфекцию являются неотъемлемой частью и одним из основных параметров эпидемиологического надзора за ВИЧ-инфекцией. Анализ фактического материала по охвату тестированием на ВИЧ-инфекцию лиц, относящихся к уязвимым группам, выявил значительное снижение (в 2,6 раза) ($p < 0,05$) доли данных лиц в структуре общего объема тестирования населения округа в течение 14 лет наблюдения (рисунок 3).

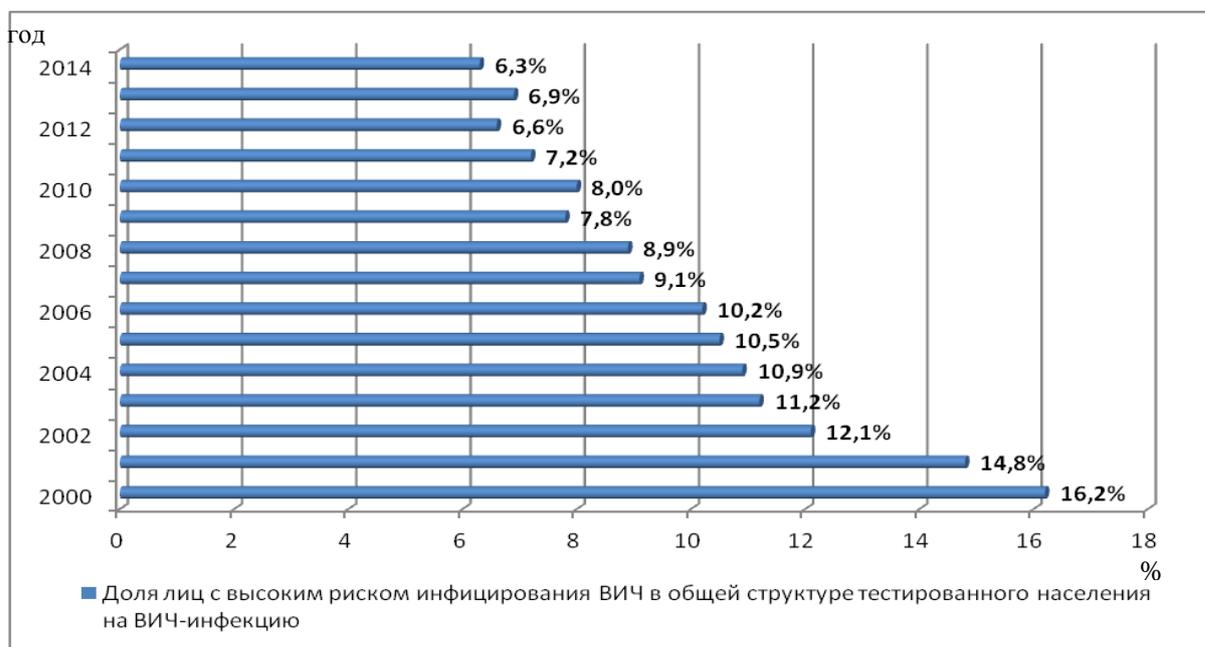


Рисунок 3 – Динамика снижения охвата тестированием групп высокого риска инфицирования ВИЧ в ПФО

Данный факт свидетельствует о том, что, несмотря на значительное количество протестированного населения (около 5 млн. человек ежегодно) и сохраняющихся объемах тестирования, большинство обследований проводится среди мало значимых с эпидемиологической точки зрения, контингентов населения. В этой связи, наряду с увеличением охвата освидетельствованием и обеспечением доступности населения к проводимым тестам на ВИЧ, как одного из целевых показателей Стратегии противодействия распространению ВИЧ-инфекции в РФ, следует соблюдать принцип дифференцированного подхода при проведении тестирования населения.

Современное направление эпидемиологического надзора за ВИЧ-инфекцией включает в себя использование лабораторных методов, позволяющих изучать на

уровне генома особенности микро-, и макроорганизма, их взаимодействие между собой, совершенствуя эпидемиологическую диагностику и раскрывая ранее неизученные механизмы патогенеза данного заболевания. В ходе настоящего исследования осуществлено одномоментное кросс-секционное исследование по изучению распространенности первичной резистентности ВИЧ к АРВП у ВИЧ-инфицированных пациентов из 12 регионов ПФО. Проведенный генетический анализ показал, что нуклеотидные последовательности штаммов ВИЧ, выделенных из 49 образцов плазмы крови обследуемых ЛЖВ, относящихся к целевой группе наблюдения, не содержали мутаций в генах RT или PR ВИЧ, ассоциированных с клинически значимой резистентностью вируса к АРВП, а среди выявленных замен ни одна из них не входила в перечень мутаций, определяющих передаваемую лекарственную устойчивость вируса. Структура вторичных мутаций, выявленных в гене RT ВИЧ у данной группы пациентов, представлена высокой частотой встречаемости полиморфизма A62V ($40,8 \pm 7,0\%$) и значительно меньшей ($p < 0,05$) распространенностью мутаций T69N ($2,0 \pm 0,1\%$) и V108I ($4,1 \pm 0,2\%$). В гене PR ВИЧ спектр мутаций был представлен следующими позициями: M36I ($8,2 \pm 0,4\%$), V77I ($4,1 \pm 0,2\%$), L10I ($4,1 \pm 0,2\%$), A71T ($2,0 \pm 0,1\%$). Необходимо отметить, что замена M36I, возникшая в геноме вирусного штамма у пациентов, не получавших ранее терапию, является предиктором мутации L90M, определяющей резистентность к NFV и SQV. Таким образом, выявление вторичных мутаций и мутаций полиморфизма у значительного количества АРВТ-«наивных» пациентов свидетельствует о возможности потенциального воздействия выявленных замен на снижение эффективности терапии в дальнейшем, что обуславливает необходимость систематического проведения подобных исследований и пристальный анализ полученных результатов.

У АРВТ-«наивных» пациентов, не вошедших в целевую группу по анализу распространенности первичной резистентности ВИЧ (65 человек) по срокам заражения, превышающими один год до момента исследования, и с числом клеток $CD4^+$ менее 500 кл/мкл на момент исследования, была выявлена замена G190S ($1,5 \pm 0,3\%$), определяющая высокий уровень устойчивости вируса к препаратам группы ННИОТ - NVP и EFV. Данный факт определил необходимость продолжения мониторинга резистентных штаммов вируса среди данной категории больных, учитывая полученные результаты при назначении АРВТ и выборе индивидуальной схемы лечения пациентов.

В масштабе ПФО оценка распространенности резистентности ВИЧ к АРВП (на фоне приема АРВТ) проведена впервые в данном исследовании. Согласно проведенному анализу, на начало 2015г. общее количество ВИЧ-инфицированных, получающих АРВТ в округе, составило 65912 человек, из которых 24343 пациента ($36,9 \pm 0,2\%$) прерывали ее по разным причинам, из них 40,7% – по причине смерти. Оставшаяся, значительная часть таких пациентов, является угрожаемой по развитию лекарственной устойчивости ВИЧ. В целом, в течение 2008-2014гг. количество ВИЧ-позитивных пациентов округа, у которых в анамнезе отмечены эпизоды прерывания приема АРВП по разным причинам, возросло в 6,35 раза ($p < 0,05$) (рисунок 4).

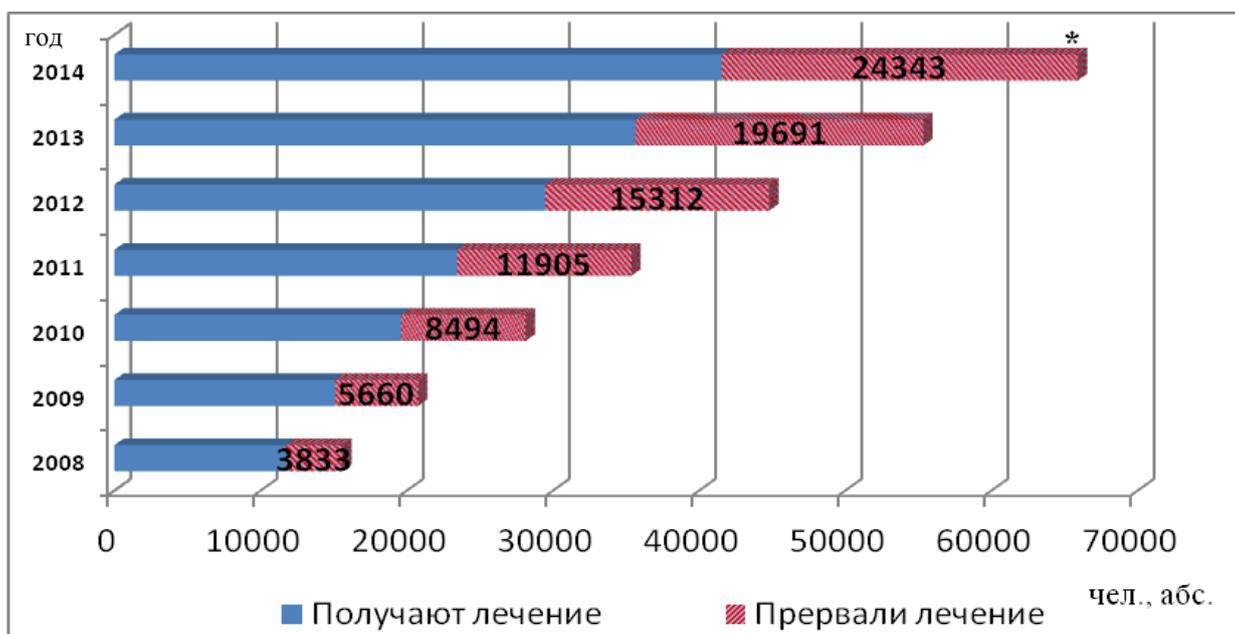


Рисунок 4 – Динамика числа инфицированных ВИЧ пациентов, получающих и прервавших антиретровирусную терапию, в ПФО по годам (*-статистически значимые различия показателя, по сравнению с 2008г.)

Еще одним подтверждением важности и актуальности проводимого в данном исследовании мониторинга резистентных штаммов ВИЧ у лиц, состоящих на диспансерном учете и получающих этиотропную терапию в территориальных центрах СПИД ПФО, является ежегодная замена схемы терапии ввиду ее вирусологической и иммунологической неэффективности. Согласно нашим данным, доля таких пациентов в субъектах округа колеблется в разные годы наблюдения от 1,5% до 3,6%.

Анализ распространенности мутаций резистентности вируса к АРВП показал, что во все годы наблюдения доминируют замены, определяющие иммунологическую и вирусологическую неэффективность препаратов группы НИОТ (56,3±1,2%). Мутации, вызывающие устойчивость вируса к группе ННИОТ ВИЧ, встречались с частотой от 27,4% до 41,8% в разные периоды наблюдения, составляя, в среднем по округу, 33,1±1,8%. Частота встречаемости мутаций высокого уровня устойчивости к ИП ВИЧ была значительно меньше, чем к предыдущим двум классам препаратов, и составила в среднем 10,5±1,2%. Вместе с тем, в ходе проведенного анализа установлена отчетливая тенденция к росту доли замен в гене протеазы ВИЧ у пациентов округа с 9,4% в 2008г. до 16,4% к концу анализируемого периода ($p < 0,05$) (рисунок 5).

В ходе настоящей работы установлено, что мутации M184V, G190A/S, K103N являются наиболее распространенными в гене RT ВИЧ, M46I – в гене PR ВИЧ, определяющие лекарственную устойчивость вируса к ЗТС, FTC, DLV, EFV, NVP, NFV.

В образцах ЛЖВ, получающих АРВТ, в 21,4±1,6% случаев выявлены вирусные штаммы с множественной лекарственной устойчивостью к двум или более классам АРВП. Данный факт свидетельствует об ограничении возможности выбора для таких пациентов альтернативных режимов приема этиотропной терапии.

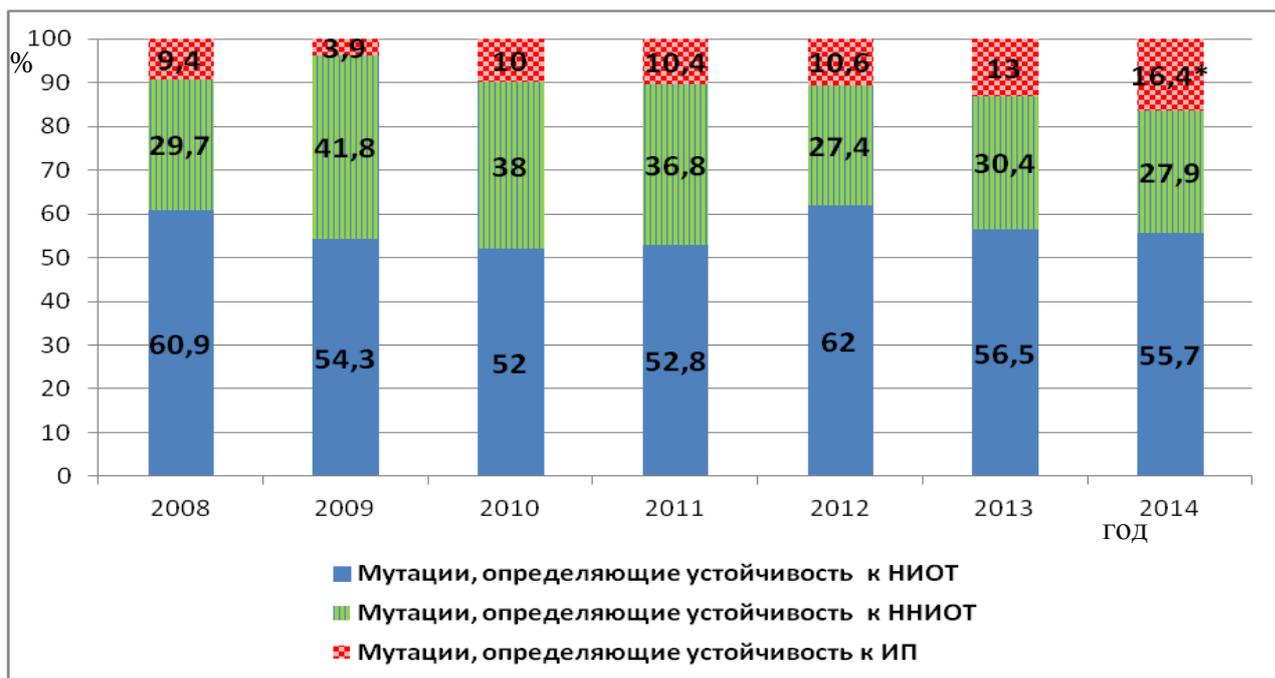


Рисунок 5 – Структура мутаций, обуславливающих высокую степень устойчивости или снижение чувствительности ВИЧ к различным группам АРВП, в ПФО (*-статистически значимые различия показателя, по сравнению с 2008г.)

У обследованных в течение 2008-2014гг. 694 инфицированных ВИЧ пациентов вирусные штаммы содержали мутации резистентности к АРВП в образцах $28,8 \pm 1,7\%$ женщин и $46,2 \pm 1,9\%$ мужчин, то есть у каждой третьей женщины и каждого второго мужчины. В целом, у $37,6 \pm 1,8\%$ пациентов округа, принимающих АРВТ, выявлены лекарственно устойчивые штаммы вируса. Отсутствие мутаций резистентности вируса у остальной, значительной части ($62,4\%$) обследованных ЛЖВ с вирусологической и иммунологической неэффективностью АРВТ является, в том числе, свидетельством нарушений преаналитического этапа исследований лекарственной устойчивости ВИЧ, в частности, при назначении данного теста у пациентов с низким уровнем дисциплины приема препаратов.

Гендерный анализ частоты встречаемости мутаций, определяющих устойчивость ВИЧ к АРВП в ПФО, показал, что лишь в 2009г. данный показатель среди женщин достоверно превысил таковой среди мужчин ($p < 0,05$), в остальные годы, имея более низкий уровень, а распространенность мутаций резистентности ВИЧ у мужчин, достоверно превышала таковую среди женщин в округе, начиная с 2010г. Лекарственно устойчивые штаммы вируса, по крайней мере, к одному препарату, были обнаружены в образцах $22,3 \pm 1,6\%$ мужчин и $14,9 \pm 1,3\%$ женщин ($p < 0,05$). В среднем 1,0 мутация была зарегистрирована на одну обследованную женщину, в то время как соответствующий результат для мужчин – 1,3 мутации. Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о некоторых гендерных различиях в частоте распространенности мутаций резистентности ВИЧ к АРВП (рисунок 6).

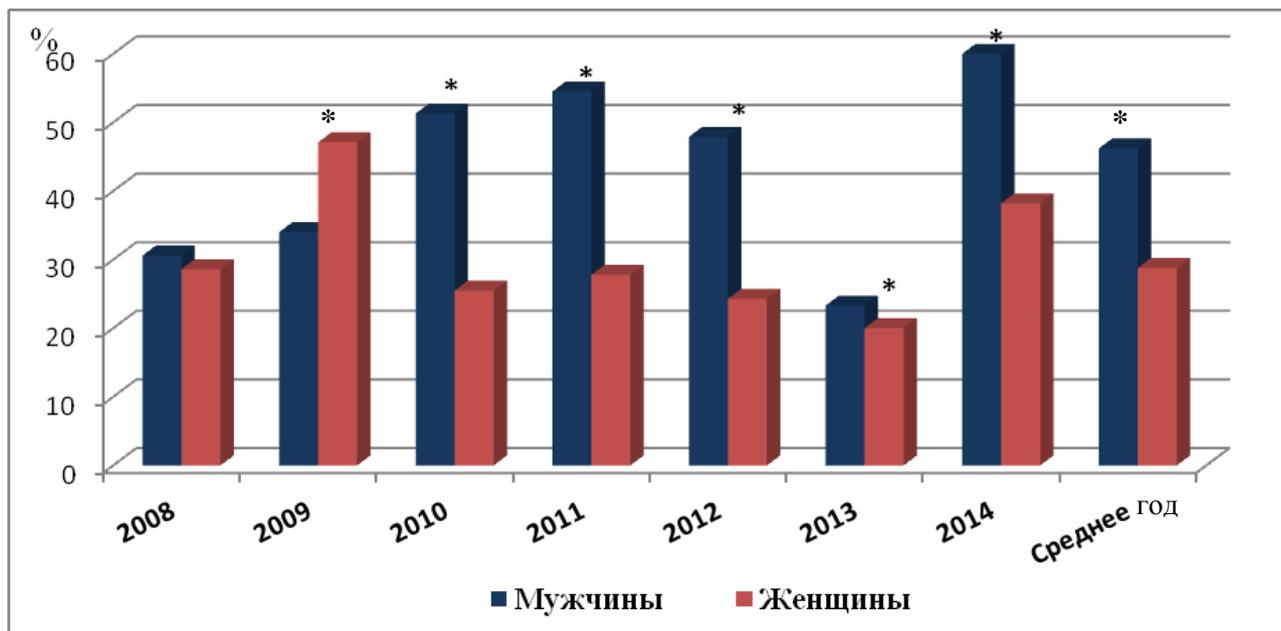


Рисунок 6 – Частота встречаемости мутаций, определяющих устойчивость ВИЧ к АРВП, у мужчин и женщин в ПФО (* - статистически значимые различия)

Полученные в ходе исследования результаты используются в практической работе специалистов учреждений здравоохранения и Роспотребнадзора субъектов ПФО, позволяя оценивать вирусологические и иммунологические критерии эффективности АРВТ, успех которой предполагает снижение риска инфицирования и вносит значительный вклад в профилактику передачи вируса от ЛЖВ здоровым людям, воздействуя, таким образом, на первое звено эпидемического процесса ВИЧ-инфекции.

ПФО обладает географически уникальным транзитным положением, располагаясь на перекрестке международных транспортных коридоров «Север-Юг» и «Восток-Запад», соединяющих Сибирь и Дальний Восток, а также страны Восточной Азии с Европейской Россией и государствами Европы. Данный факт, несомненно, вносит определенный вклад в спектр циркулирующих вариантов вируса иммунодефицита человека в округе, актуализируя необходимость проведения молекулярно-эпидемиологического мониторинга генетических вариантов ВИЧ на административных территориях ПФО.

Изучение распределения субтипов ВИЧ-1 в регионах ПФО позволило установить, что имеются некоторые различия в зависимости от сроков наблюдения. В этой связи, нами условно были выделены два периода: 2008-2010гг. – первый и 2011-2014гг. – второй. Так, образцы, поступившие на исследование в период 2008-2010гг., в $91,3 \pm 1,7\%$ случаев генотипировались как вариант А, в $8,7 \pm 1,6\%$ - как В. Других генетических вариантов вируса в этот период времени не выявлялось (рисунок 7). Во второй период (2011-2014гг.) спектр субтипов ВИЧ-1 значительно расширился, в основном, за счет появления различных рекомбинантных вариантов вируса и штамма субтипа С (рисунок 7). Вместе с тем, лидирующее положение также сохранялось за вариантом А ($96,4 \pm 0,9\%$), вторым по частоте обнаружения вновь явился субтип В ($2,0 \pm 0,4\%$).

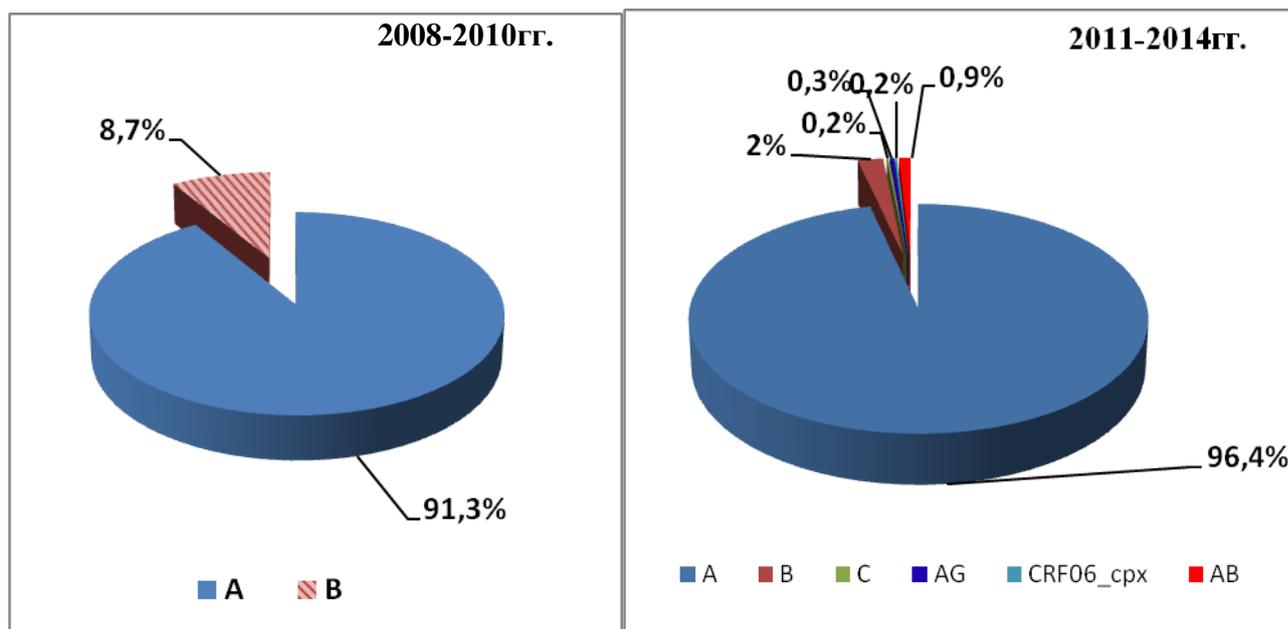


Рисунок 7 – Пейзаж генетических вариантов ВИЧ-1 и их распространенность в субъектах ПФО

Следует отметить, что вариант В в 2008-2010гг. в 100% случаев был выделен из образцов плазмы крови мужчин с гомосексуальной идентичностью, а в последующие годы циркулировал и в среде потребителей психоактивных веществ, и в популяции лиц, инфицированных при гетеросексуальных контактах.

Наибольшее генетическое разнообразие субтипов ВИЧ-1, выделенных из образцов биоматериала ЛЖВ округа, отмечалось в Кировской (А, В, АВ, CRF06_cpx), Самарской (А, С, АG), Нижегородской (А, В, АВ) областях. Субтип А циркулировал как моновариант в четырех субъектах округа (республики Башкортостан, Татарстан, Мордовия и Оренбургская область), в других субъектах ПФО его доля среди других генетических вариантов вируса составляла свыше 83,0%.

Применение молекулярно-генетических методов при установлении причин расширения спектра циркулирующих в субъектах Приволжского округа генетических вариантов ВИЧ-1 в 2011-2014гг. позволило определить, что такое генетическое многообразие, не характерное для изучаемого региона, явилось результатом единичных и множественных заносов отдаленных вариантов вируса из различных стран мира и регионов России. Молекулярно-эпидемиологические связи и генетическое родство между циркулирующими в регионах ПФО вариантами вируса и последовательностями генома ВИЧ, взятыми в качестве референсных из международной базы GenBank, были выявлены по результатам сравнительного филогенетического анализа и подтверждены данными эпидемиологических расследований (рисунок 8).

Таким образом, проведенный в ходе данного исследования молекулярно-эпидемиологический мониторинг генетических вариантов ВИЧ стал дополнительным элементом информационного и диагностического обеспечения системы надзора за ВИЧ-инфекцией в субъектах ПФО.

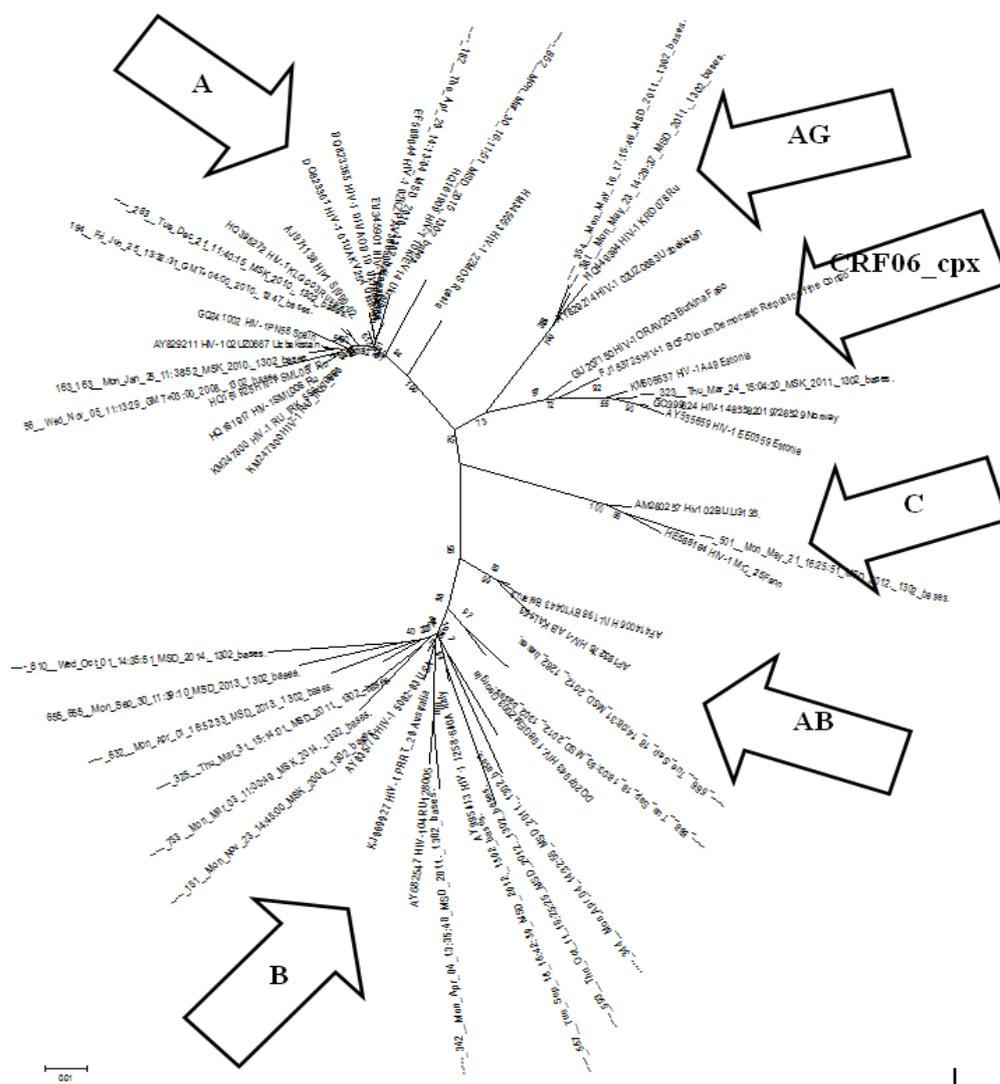
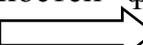


Рисунок 8 – Филогенетическая дендрограмма, построенная на основе нуклеотидных последовательностей фрагмента гена *pol* генома российских и зарубежных штаммов ВИЧ-1,  субтипы ВИЧ-1

Следует отметить, что в дальнейшем, в связи с увеличением миграционных потоков населения, спектр генетических вариантов ВИЧ в субъектах ПФО будет значительно расширяться. Так, согласно нашим исследованиям, доля выявленных серопозитивных граждан Украины, прибывших на административные территории округа по гуманитарным обстоятельствам в течение 2014-2016гг., достоверно ($p < 0,05$) превышала таковую среди всех обследованных иностранных граждан в течение периода наблюдения (рисунок 9).

Указанные выше обстоятельства, в том числе предстоящий Чемпионат мира по футболу, который будет проведен в РФ в 2018г., в том числе и в ряде субъектов ПФО, определенным образом повлияет на развитие эпидемического процесса ВИЧ-инфекции в округе, дополнив спектр циркулирующих в субъектах ПФО генетических вариантов ВИЧ новыми, ранее не характерными для региона субтипами, мутантными штаммами вируса и т.д.

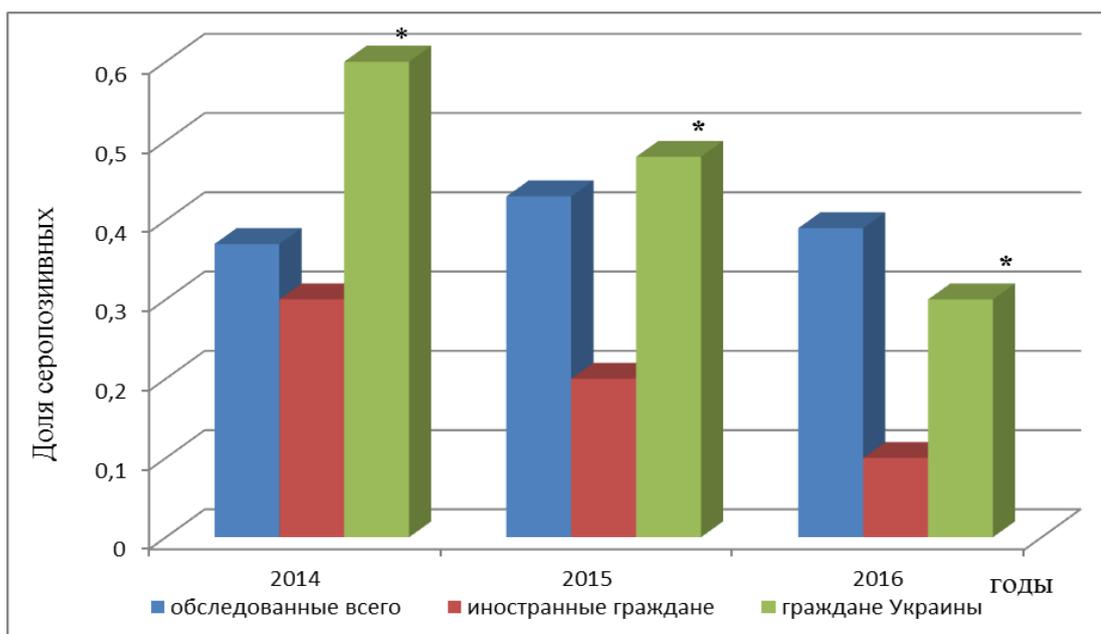


Рисунок 9 – Доля серопозитивных среди обследованных на ВИЧ-инфекцию в субъектах ПФО в 2014-2016гг. (*- статистически значимые различия по доле выявленных серопозитивных лиц среди всех обследованных иностранных граждан и граждан Украины в ПФО)

В рамках настоящего исследования изучена распространенность мутаций резистентности в генах PR и RT ВИЧ к АРВП в контексте циркулирующих субтипов ВИЧ-1 в ПФО. Наиболее распространенной мутацией НИОТ явилась замена M184V, присутствующая во всех субтипах вируса с выявленной резистентностью к ЗТС и ФТС. Кроме того, наибольшее распространение получили замены в кодонах D67N, K70R, T215I/Y, K219E/Q, определяющие резистентность вируса к AZT в четырех его генетических вариантах (А; В; АВ; CRF06_cpx). Наиболее распространенными мутациями ННИОТ были K101E (субтипы А; В; АВ), K103N (А; В; АВ; CRF06_cpx) и G190A/C/S (А; В; АВ), обуславливающие резистентность к NVP, EFV и RPV. В ходе проведения работы были определены и специфические характеристические мутации. Так, в группе НИОТ таковой явилась замена L74V - для варианта В, в группе ННИОТ характеристические мутации отсутствовали, а в группе ИП ВИЧ все выявленные мутации встречались в образцах, генотипированных как субтип В. Показано, что рекомбинантный вариант AG ВИЧ содержал меньше всего замен, а наибольшее разнообразие мутаций было присуще субтипу В ($p < 0,05$). Полученные данные, с учетом циркуляции различных генетических вариантов вируса, имеют большое значение как для выбора терапевтических схем и подбора комплексов имеющихся препаратов пациентам, так и для разработки новых лечебных продуктов.

Согласно полученным результатам, генетические характеристики штаммов ВИЧ, выделенных из образцов ЛЖВ, находящихся в учреждениях пенитенциарной системы округа, не имеют принципиальных отличий, свидетельствуя об идентичности молекулярно-генетических свойств вируса и особенностей течения эпидемического процесса ВИЧ-инфекции как в среде «гражданского» населения, так и у данной категории лиц.

При помощи современных лабораторных методов была изучена частота обнаружения генетического маркера HLA-B*5701 у ЛЖВ пяти регионов ПФО. Полученные результаты ($4,9 \pm 1,2\%$) сопоставимы с данными российских и международных исследователей и свидетельствуют об обязательности фармакогенетического тестирования ВИЧ-положительных лиц на наличие аллели 5701 локуса В главного комплекса гистосовместимости человека перед началом приема АВС в РФ для исключения побочных эффектов от приема АРВП, повышая приверженность пациента проводимой АРВТ.

Реализация комплексной программы по мониторингу лекарственной устойчивости ВИЧ в субъектах ПФО, проводимой в рамках данного исследования, включала теоретический и практический этапы. Для анализа уровня теоретических знаний сотрудников территориальных центров СПИД ПФО по вопросам организации преаналитического этапа молекулярно-генетических исследований ВИЧ-инфекции было проведено дистанционное несвязанное анонимное тестирование. Установлено, что респонденты имели различную степень подготовки по данной тематике. Так, количество правильных ответов имело значительный размах, варьируя от $41,4 \pm 4,7\%$ до $82,8 \pm 3,6\%$. В среднем по округу число неверных ответов регистрировалось на уровне $17,0 \pm 3,2\%$. Наиболее часто у респондентов вызвали затруднения вопросы, связанные с показаниями к назначению теста на лекарственную устойчивость ВИЧ, условий забора и хранения биоматериала, подготовки материала для исследования. Таким образом, имеется острая необходимость в получении информации и тематическом обучении сотрудников службы профилактики ВИЧ-инфекции/СПИД округа по вопросам, касающимся правил проведения генотипирования ВИЧ с акцентом на соблюдение качества мероприятий преаналитического этапа. Практический этап программы включал анализ содержательной части направлений на определение лекарственной устойчивости ВИЧ и анализ медицинских карт амбулаторных больных, состоящих на диспансерном учете в 9 субъектах ПФО и получающих АРВТ не менее одного года. По результатам практической части программы определены три основные группы нарушений преаналитического этапа при выполнении теста на лекарственную устойчивость ВИЧ:

1. Нарушения, связанные с выполнением правил обследования и назначения теста (назначение при уровне РНК ВИЧ менее 500 коп/мл., после перерыва в лечении, сразу после смены схемы АРВТ, без определения показателей РНК ВИЧ и $CD4^+$ T-лимфоцитов, необоснованность назначения исследования).

2. Нарушения в заполнении/оформлении документации (неполное заполнение направлений - отсутствие даты забора крови, показаний к тестированию, длительности приема схемы АРВТ и др.; формальное и небрежное заполнение направлений).

3. Нарушения при работе с биоматериалом (нарушение сроков транспортировки, ошибки в подготовке материала).

Подавляющее большинство нарушений, отнесенных к первой группе, составили назначения теста на лекарственную устойчивость ВИЧ при уровне РНК ВИЧ менее 500 коп/мл – $87,7 \pm 5,1\%$. В целом, среди всех групп, нарушения первой группы встречались в $67,3 \pm 2,9\%$ случаев. Положения, отнесенные ко второй группе, как по отдельности, так и одновременно, встречались также относительно часто,

составляя в целом среди всех групп около 70% ($68,7 \pm 4,1\%$). Нарушения третьей группы были зарегистрированы в меньшем числе случаев ($15,3 \pm 1,4\%$) по отношению к двум предыдущим группам ($p < 0,05$). Таким образом, проведенные исследования позволили утверждать, что качество процедуры преаналитического этапа, включающего мероприятия по назначению, забору, хранению и доставке материала – это фактор получения объективного и корректного результата в мониторинге лекарственной устойчивости ВИЧ.

Полученные данные послужили основанием для разработки следующих методических подходов, позволяющих оптимизировать алгоритм проведения исследований по генотипированию ВИЧ:

- разработка дополнительной документации, регламентирующей выполнение подобных исследований, на базе имеющихся отечественных и международных рекомендаций;
- включение в учебные планы подготовки и переподготовки соответствующих специалистов разделов, касающихся алгоритма обследования пациента и правил проведения исследований;
- разработка и внедрение в образовательный процесс на базе высших и средних медицинских учебных заведений новых программ, включающих обучение навыкам работы с передовыми медицинскими технологиями и оборудованием;
- достаточное обеспечение финансированием всего объема исследований по лабораторному сопровождению стандартов первичной медико-санитарной помощи ВИЧ-положительным лицам;
- применение комплексного подхода и практики совместного участия специалистов лабораторной службы и клинических подразделений центров СПИД ПФО к проведению алгоритма генотипирования ВИЧ;
- строгое соблюдение правил забора, сроков хранения образцов, доставки биоматериала, исключение отсроченности выполнения исследований на лекарственную устойчивость ВИЧ;
- соблюдение требований нормативно-методических документов, инструкций к диагностикумам и тест-системам и обязательное их выполнение на всех этапах проведения преаналитического этапа лабораторных исследований.

Показана целесообразность организации централизованного проведения высокотехнологичных исследований по генотипированию ВИЧ на базе научно-исследовательских институтов (федеральных окружных центров по профилактике и борьбе со СПИД) с созданием оперативной системы доставки биоматериала, обеспеченной соответствующим государственным финансированием.

В рамках данного исследования для оказания практической помощи органам здравоохранения, учреждениям Роспотребнадзора, следственным органам МВД субъектов ПФО было показано использование современных лабораторных методов при установлении причинно-следственных связей в пяти эпидемических очагах ВИЧ-инфекции. Результаты молекулярно-генетической экспертизы случая криминального заражения ВИЧ-инфекцией, проведенной в рамках возбужденного уголовного дела (рисунок 10а), показали, что образцы исследуемой группы (№859 и №860) достоверно группировались на филогенетическом дереве, образуя общий кластер, были генетически более близки друг с другом, чем с образцами из группы

сравнения. Вышеизложенное свидетельствует о высокой вероятности наличия эпидемиологической связи между ними.

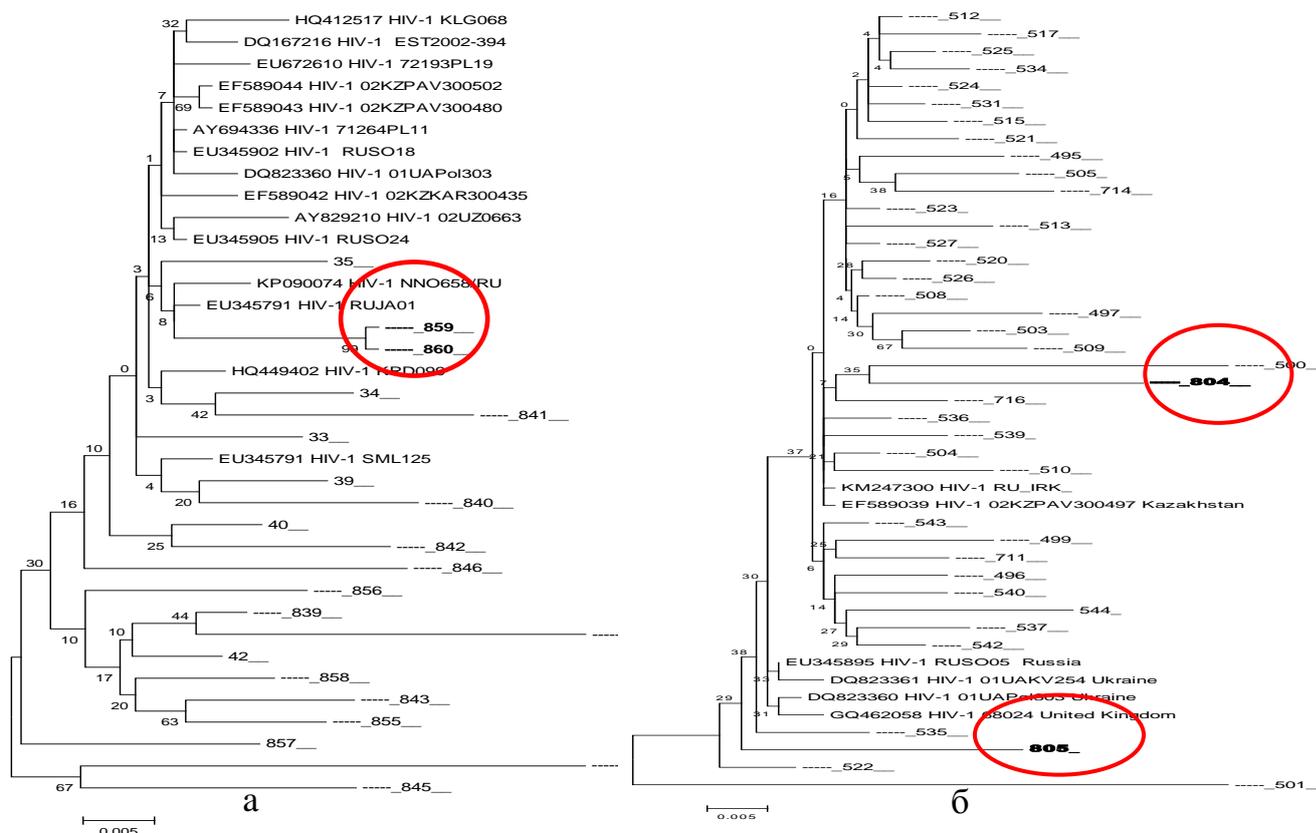


Рисунок 10 – Результаты филогенетического анализа при расследовании криминального случая заражения ВИЧ-инфекцией (10а) и подозрении на профессиональное инфицирование ВИЧ (10б)

Результаты проведенной молекулярно-генетической экспертизы при подозрении на профессиональное инфицирование ВИЧ (рисунок 10б), не подтвердили генетического родства между образцами исследуемой группы №804 и №805, которые кластеризовались вокруг нуклеотидных последовательностей образцов группы сравнения, имея с ними большую генетическую близость. В этой связи, с высокой степенью уверенности можно утверждать о низкой вероятности наличия эпидемиологической связи между ними.

В целом, использование метода генотипирования ВИЧ и последующего филогенетического анализа, совместно с данными классического эпидемиологического расследования, является важным дополнением, а иногда и единственным объективным доказательством наличия/отсутствия генетической близости между исследуемыми образцами в эпидемиологической цепочке. Очевидно, что использование данного подхода, как дополнительного диагностического компонента надзора за ВИЧ-инфекцией, расширяет возможности эпидемиологической диагностики при расследовании «сложных» и спорных случаев инфицирования ВИЧ, позволяет решать задачи, связанные с реализацией механизма передачи вируса в эпидемических очагах ВИЧ-инфекции.

Современные аспекты эпидемиологического надзора обусловили острую необходимость и важность применения компьютерных технологий для анализа

огромного массива статистических данных. Одним из путей решения этой проблемы явилось объединение эпидемиологической, картографической и информационной составляющих надзора в единый формат автоматизированного представления и анализа эпидемиологических характеристик различных нозологий на основе карты мониторируемой территории. Подобный алгоритм представления данных заложен в основу геоинформационного проекта «Электронный эпидемиологический атлас Приволжского федерального округа», созданного во ФБУН ННИИЭМ им. академика И.Н. Блохиной Роспотребнадзора (<http://epid-atlas.nniiem.ru>). Функциональное ядро атласа составляет база данных, представляющая собой связанные таблицы, имеющие определенную эпидемиологическую и статистическую информацию по различным инфекционным патологиям в масштабе субъектов ПФО и округа в целом. В ходе проведения настоящего исследования для оптимизации эпидемиологического мониторинга ВИЧ-инфекции, как одной из актуальнейших инфекций ПФО, создан тематический раздел атласа «ВИЧ-инфекция». Функционал данного раздела позволил сконцентрировать и поддерживать в актуальном состоянии имеющуюся информационную базу данных в разрезе 14 субъектов ПФО за многолетний период, осуществлять пространственно-временной анализ, отражая графические и числовые данные, характеризующие эпидемический процесс ВИЧ-инфекции на электронных картах округа, максимально визуализируя результаты проводимого мониторинга (рисунок 11).

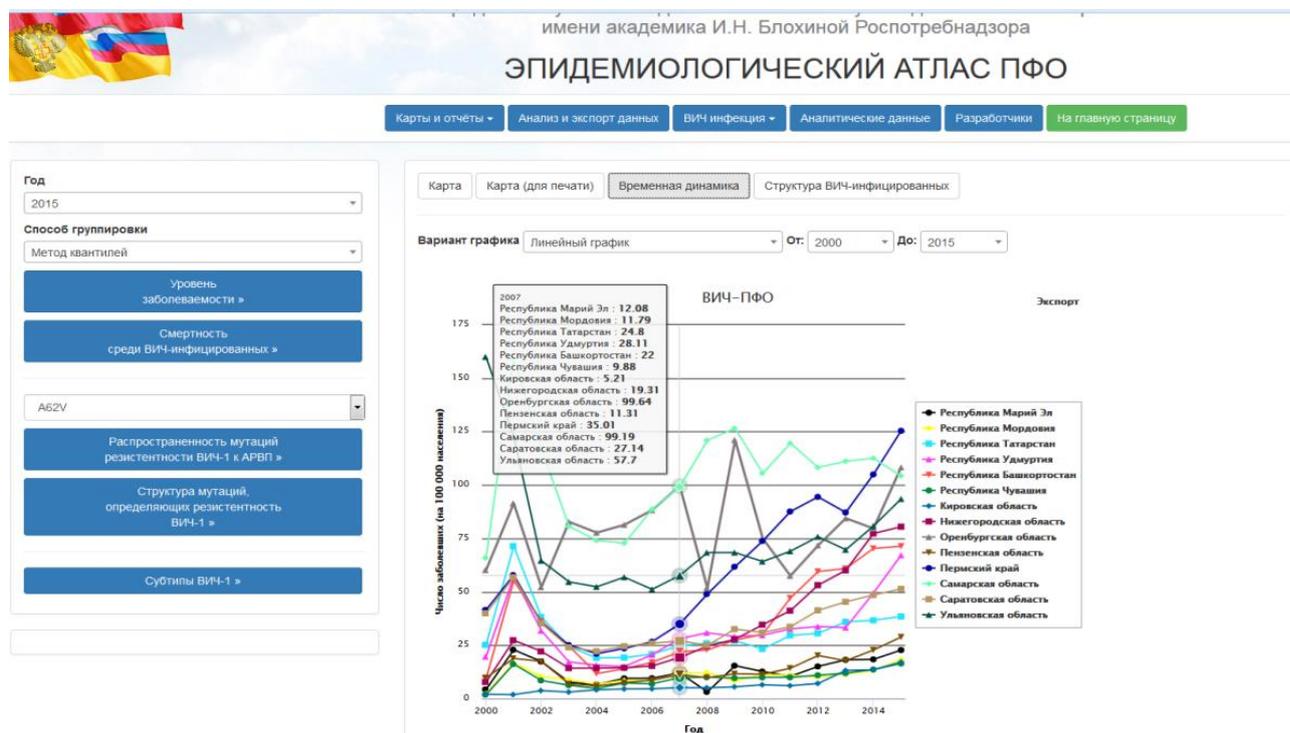


Рисунок 11 – Скриншот «Электронный эпидемиологический атлас ПФО. Раздел «ВИЧ-инфекция» (<http://epid-atlas.nniiem.ru>). Многолетние (2000-2015гг.) показатели инцидентности ВИЧ-инфекции в субъектах ПФО

Помимо классических характеристик эпидемического процесса ВИЧ-инфекции: заболеваемость, пораженность (подраздел «Временная динамика»), смертность, летальность (подраздел «Смертность среди ВИЧ-инфицированных»),

поло-возрастная и социальная структуры ЛЖВ, пути передачи инфекции (подраздел «Структура ВИЧ-инфицированных») в тематическом разделе атласа представлены результаты проведенного молекулярно-генетического мониторинга резистентных штаммов (подразделы «Структура мутаций, определяющих резистентность ВИЧ-1 к АРВП», «Распространенность мутаций резистентности ВИЧ-1 к АРВП») и генетических вариантов ВИЧ (подраздел «Субтипы ВИЧ-1»). Глубина имеющихся архивов данных по разделу «ВИЧ-инфекция» в формате атласа самая наибольшая и составляет интервал с 1996г. по настоящий момент времени. Методология раздела атласа позволяет сравнивать обстановку по заболеваемости ВИЧ-инфекцией в регионах для проведения постоянной диагностической оценки, мониторинга и прогнозирования эпидемиологических рисков. Несомненным преимуществом атласа, признаком его «гибкости» и мобильности является доступ пользователя к исходной табличной информации. Систематизация электронных потоков разнородных статистических данных оптимизирует эпидемиологический надзор за ВИЧ-инфекцией, повышая его технологический уровень. Использование современных геоинформационных методик отвечает требованиям государственной политики по внедрению новых технологий в практику работы учреждений службы Роспотребнадзора и органов здравоохранения, органично дополняя информационную подсистему классического эпидемиологического надзора за ВИЧ-инфекцией.

Заключение

На основе результатов, представленных в рамках данного исследования, показано, что интеграция в систему мониторинга ВИЧ-инфекции дополнительных элементов надзора, позволяет оперативно определять комплекс управленческих решений, их организационно-методическое обеспечение и, на их основе, стратегию и тактику борьбы с ВИЧ-инфекцией, рационально планировать профилактические и противоэпидемические мероприятия, их корректировку и реализацию на уровне управленческой подсистемы надзора.

Таким образом, можно заключить, что применение комплексного подхода, включающего в себя использование современных молекулярно-генетических методов и геоинформационных технологий, является актуальным направлением в развитии эпидемиологической науки на современном этапе, оптимизируя и совершенствуя мониторинг ВИЧ-инфекции в части, касающейся его информационного и диагностического наполнения. Данный подход целесообразен при проведении всестороннего анализа, оценки и прогнозирования эпидемиологических рисков с целью принятия организационных и управленческих решений по оптимизации использования финансовых средств, направляемых на стабилизацию эпидемии ВИЧ-инфекции.

Перспективы дальнейшей разработки темы. Перспективным направлением для дальнейших исследований является проведение молекулярно-генетических экспертиз, экспертных оценок и оказание практической помощи в эпидемиологических расследованиях при подозрении на инфицирование ВИЧ, в том числе при оказании медицинской помощи. Важной задачей, с учетом расширения миграционных потоков населения ПФО, будет являться молекулярно-эпидемиологический мониторинг новых резистентных штаммов вируса

иммунодефицита человека и генетических вариантов ВИЧ. Перспективно включение социальных аспектов профилактической работы в систему эпидемиологического надзора за ВИЧ-инфекцией в контексте повышения профессиональной компетентности педагогических работников в области работы по интеграции детей, затронутых ВИЧ-инфекцией, в образовательную среду.

В перспективе также планируется обновление и пополнение базы данных электронного эпидемиологического атласа ПФО в направлении расширения и наполнения раздела «ВИЧ-инфекция» дополнительными материалами по молекулярно-генетическому мониторингу ВИЧ-инфекции, сероэпидемиологическому скринингу населения округа на маркеры ВИЧ-инфекции, включение в функционал атласа блока краткосрочного/долгосрочного прогнозирования развития эпидемического процесса ВИЧ-инфекции, а также информации, касающейся результатов проведения дозорных сероэпидемиологических и поведенческих исследований среди уязвимых контингентов населения ПФО.

Выводы

1. Многолетний формат эпидемии ВИЧ-инфекции в ПФО представлен формированием двух периодов своего развития: предэпидемический (1988-1995гг.) и период эпидемии (1996-2014гг.) с постепенным и последовательным вовлечением в эпидемический процесс всех субъектов округа, механизмов и путей передачи инфекции, возрастных и социальных категорий населения. Установлено значительное (в 2,6 раза, $p < 0,05$) снижение охвата тестированием доли лиц из групп высокого риска инфицирования ВИЧ в течение 2000-2014гг., с одновременным ростом выявляемости ВИЧ-инфекции среди них.

2. Результаты молекулярно-генетического мониторинга резистентности ВИЧ к антиретровирусным препаратам в субъектах ПФО позволили определить отсутствие мутаций в генах RT и PR ВИЧ, ассоциированных с первичной резистентностью вируса. Показатель распространенности мутаций передающейся устойчивости в вирусном геноме АРВТ «наивных» лиц ПФО с давним сроком инфицирования составил 1,5%. Наличие мутантных штаммов ВИЧ у данной категории пациентов, планирующих начало антиретровирусной терапии, следует учитывать при выборе индивидуальной схемы лечения.

3. Установлено, что штаммы ВИЧ содержат мутации высокой степени устойчивости к АРВП у 28,8±1,7% женщин и 46,2±1,9% мужчин, получающих АРВТ в ПФО, составляя в среднем по округу 37,6±1,8%. Гендерный анализ частоты встречаемости мутаций резистентности ВИЧ к АРВП, показал, что уровень распространенности последней у мужчин достоверно превышал таковой среди женщин, начиная с 2010г. ($p < 0,05$). В среднем 1,0 мутация была зарегистрирована на одну обследованную женщину, в то время как соответствующий результат для мужчин – 1,3 мутации.

4. В структуре мутаций, определяющих вторичную фармакологическую резистентность ВИЧ к АРВП в ПФО, доминируют замены, обуславливающие иммунологическую и вирусологическую неэффективность препаратов группы НИОТ (56,3±1,2%), в 33,1±1,8% - группы ННИОТ и в 10,5±1,2% случаев – группы ИП ВИЧ. Вирусные штаммы с множественной лекарственной устойчивостью к

двум или более классам антиретровирусных препаратов выявлены в $21,4 \pm 1,6\%$ случаев в образцах инфицированных пациентов округа. Мутации M184V, G190A/S, K103N являются наиболее распространенными в гене RT ВИЧ и M46I – в гене PR, определяющие лекарственную устойчивость вируса к ЗТС, FTC, DLV, EFV, NVP, NFV. Выявлена тенденция к нарастанию числа мутаций резистентности в гене PR ВИЧ с $3,9 \pm 0,7\%$ в 2009г. до $16,4 \pm 1,4\%$ в 2014г. ($p < 0,05$).

5. В спектре циркулирующих генетических вариантов ВИЧ-1 в ПФО показано доминирование субтипа А в оба периода наблюдения: $91,3 \pm 1,7\%$ в 2008-2010гг. и $96,4 \pm 0,9\%$ в 2011-2014гг. Вторым по частоте обнаружения является субтип В ($8,7 \pm 0,9\%$ и $2,0 \pm 0,4\%$ соответственно). Установлено более широкое субтиповое разнообразие генетических вариантов ВИЧ-1 в образцах периода 2011-2014гг., обусловленное появлением рекомбинантов (AB, AG, CRF06_cpx) и штамма субтипа С, имеющих филогенетическое родство и молекулярно-эпидемиологические связи с отдаленными вариантами вируса из различных стран мира и регионов России, подтвержденные результатами филогенетического анализа.

6. Замена в кодоне L74V явилась специфической характеристической мутацией для группы НИОТ (субтип В), определяющей резистентность вируса к ABC и ddI. Для группы ННИОТ ВИЧ характеристических мутаций резистентности не выявлено. Мутации резистентности к группе препаратов ИП ВИЧ выявлялись только в образцах, генотипированных как вариант В, и определяли устойчивость вируса к DRV. Установлено, что рекомбинант AG ВИЧ содержал меньше всего замен, а наибольшее разнообразие мутаций лекарственной устойчивости было присуще субтипу В ($p < 0,05$).

7. Генотипирование ВИЧ и последующий филогенетический анализ обеспечивают проведение качественного и объективного эпидемиологического расследования с установлением причинно-следственных связей при подозрении на инфицирование вирусом иммунодефицита человека, позволяя сократить число нерасшифрованных эпидемических очагов ВИЧ-инфекции, являясь, в конечном итоге, необходимым элементом для постановки эпидемиологического диагноза.

8. Основными группами нарушений в организации и проведении преаналитического этапа молекулярной диагностики в надзоре за циркуляцией резистентных штаммов ВИЧ в ПФО, оказывающих существенное влияние на результативность, информативность и объективность получаемых результатов, являются: нарушения, связанные с выполнением правил обследования и назначения теста на резистентность ВИЧ к АРВП, нарушения в заполнении/оформлении документации, нарушения при работе с биологическим материалом. Разработанные методические подходы к соблюдению требований преаналитического этапа генотипирования ВИЧ позволят совершенствовать эпидемиологический мониторинг лекарственно устойчивых штаммов вируса, обеспечивая качество и достоверность лабораторного анализа, сокращают экономические затраты.

9. Использование современных программных продуктов, таких как раздел «ВИЧ-инфекция» электронного эпидемиологического атласа ПФО, дает возможность создания единого информационного пространства в масштабе Приволжского федерального округа, позволяет оперативно проводить

всесторонний эпидемиологический анализ, принимать обоснованные организационные и управленческие решения, определять выбор и тактику проведения профилактических и противоэпидемических мероприятий, координировать взаимодействие различных специалистов, учреждений и ведомств для создания эффективной системы противодействия эпидемии ВИЧ-инфекции и снижения уровня заболеваемости населения.

10. Комплексный подход на основе дополнения информационной и диагностической подсистемы классического эпидемиологического надзора современными молекулярно-генетическими методами и геоинформационными технологиями позволяет повысить уровень эпидемиологического анализа и диагностики, обеспечить технологии управления эпидемическим процессом ВИЧ-инфекции современными инструментами мониторинга.

Практические рекомендации

Мерами дальнейшего совершенствования системы эпидемиологического надзора за ВИЧ-инфекцией следует считать: оптимизацию сероэпидемиологического мониторинга ВИЧ-инфекции (дифференциация структуры обследований) с максимальной степенью доступности населения обследованию на маркеры ВИЧ-инфекции; оптимизацию молекулярно-эпидемиологического мониторинга лекарственно устойчивых штаммов вируса (совершенствование нормативно-правовой базы; централизацию исследований по проведению генотипирования ВИЧ в федеральных НИИ эпидемиологического профиля на базе окружных центров по профилактике и борьбе со СПИД; включение в учебные планы подготовки и переподготовки соответствующих специалистов разделов, касающихся правил проведения генотипирования ВИЧ); включение в программу Федеральной системы внешней оценки качества разделов по контролю качества молекулярно-генетических исследований в части мониторинга за резистентностью ВИЧ к АРВП; внедрение в методологию эпидемиологического надзора алгоритмов генотипирования ВИЧ и филогенетического анализа, как раздела практической работы специалистов в эпидемических очагах ВИЧ-инфекции; включение информационных технологий в систему мониторинга эпидемического процесса актуальных инфекционных нозологий, в том числе ВИЧ-инфекции, создание единого информационного поля и доступа к данным многолетнего мониторинга и справочным/аналитическим материалам. С учетом идеологии и методологии создания геоинформационного проекта «Электронный эпидемиологический атлас ПФО», целесообразно распространить опыт разработки и применения материалов раздела «ВИЧ-инфекция» указанного проекта при проведении мониторинга ВИЧ-инфекции в масштабе Российской Федерации.

Список опубликованных работ по теме диссертации

1. Носов, Н.Н. Анализ результатов исследования крови на антитела к ВИЧ по Приволжскому федеральному округу за 2005 г. / Н.Н. Носов, Е.Е. Альтава, Н.Н. Зайцева // Новые технологии в профилактике, диагностике, эпиднадзоре и лечении инфекционных заболеваний : материалы науч. конф., посвященной 85-летию со д. р. акад. РАМН И.Н. Блохиной. – Н. Новгород : Б.и, 2006. – С. 297-298.

2. Носов, Н.Н. ВИЧ-инфекция в Приволжском федеральном округе / Н.Н. Носов, Е.Е. Альтова, Н.Н. Зайцева // Новые технологии в профилактике, диагностике, эпиднадзоре и лечении инфекционных заболеваний : материалы науч. конф., посвященной 85-летию со д. р. академика РАМН И.Н. Блохиной. – Н. Новгород : Б.и., 2006. – С. 298-299.
3. Кузоватова, Е.Е. Характеристика контингентов больных ВИЧ-инфекцией в Приволжском федеральном округе / Е.Е. Кузоватова, Е.Е. Альтова, Н.Н. Зайцева // Новые технологии в профилактике, диагностике, эпиднадзоре и лечении инфекционных заболеваний : материалы науч. конф., посвященной 85-летию со д. р. академика РАМН И.Н. Блохиной. – Н. Новгород : Б.и., 2006. – С. 302-304.
4. Подходы к организации профилактической работы с молодежью на разных стадиях развития эпидемии ВИЧ-инфекции / Н.Н. Носов, Е.Е. Альтова, Н.Н. Зайцева [и др.] // Здоровье нации. Основа процветания России : материалы II Всероссийского форума. – М. : Б.и., 2006. – С. 102-103.
5. Носов, Н.Н. ВИЧ-инфекция в Приволжском федеральном округе / Н.Н. Носов, Е.Е. Альтова, Н.Н. Зайцева // Новые технологии в диагностике и лечении инфекционных болезней : специальный выпуск для врачей. – Н. Новгород : Ремедиум Приволжье, 2006. – С. 21-22.
6. Наркомания и ВИЧ-инфекция в ПФО / Н.Н. Носов, Е.И. Ефимов, Н.Н. Зайцева [и др.] // Материалы IX съезда Всероссийского науч.-практ. общества эпидемиологов, микробиологов и паразитологов. – М. : Б.и., 2007. – С. 300-301.
7. Сероэпидемиологический мониторинг беременных ПФО на ВИЧ-инфекцию / Е.И. Ефимов, Н.Н. Носов, Е.Е. Альтова, Н.Н. Зайцева // Современные проблемы эпидемиологии : сб. статей, посвященный 65-летию кафедры эпидемиологии НижГМА. – Н. Новгород : Б.и., 2007. – С. 212-216.
8. ВИЧ-инфекция в Приволжском федеральном округе в 2006-2007 гг. / Е.Е. Альтова, Н.Н. Зайцева, Н.Н. Носов [и др.] // Сб. тр. конгресса международного науч.-промышленного форума «Великие реки 2007». – Н. Новгород : Б.и, 2007. – С. 380-381.
9. ВИЧ-инфекция в Приволжском федеральном округе / Н.Н. Зайцева, Е.Е. Альтова, Н.Н. Носов [и др.] // Медицинский Альманах. – 2009. – № 2 (7). – С. 149-151.
10. Кузоватова, Е.Е. Диспансеризация ВИЧ-инфицированных в Приволжском федеральном округе / Е.Е. Кузоватова, Н.Н. Зайцева // Тихоокеанский медицинский журнал. – 2009. – № 4. – С. 83-86.
11. Зайцева, Н.Н. Результаты обследования населения Приволжского федерального округа на антитела к ВИЧ в 2008 году / Н.Н. Зайцева, Е.Е. Альтова, Н.Н. Носов // Научное обеспечение противоэпидемической защиты населения : материалы юбилейной науч.-практ. конф. – Н. Новгород : Б.и., 2009. – С. 246-247.
12. Кузоватова, Е.Е. Анализ контингентов больных ВИЧ-инфекцией в Приволжском федеральном округе в 2008 году / Е.Е. Кузоватова, Н.Н. Зайцева // Научное обеспечение противоэпидемической защиты населения : материалы юбилейной науч.-практ. конф. – Н. Новгород : Б.и., 2009. – С. 251-254.
13. ВИЧ-инфекция в Приволжском федеральном округе / Н.Н. Зайцева, Е.И. Ефимов, Е.Е. Альтова [и др.] // Медицинский Альманах. – 2010. – № 3 (12). – С. 124-126.
14. Кузоватова, Е.Е. Организация диспансерного наблюдения больных ВИЧ-инфекцией в Приволжском федеральном округе в 2009 году / Е.Е. Кузоватова, Н.Н. Зайцева // Медицинский Альманах. – 2010. – № 3 (12). – С. 127-130.
15. Носов, Н.Н. Современные аспекты эпидемиологического надзора за ВИЧ-инфекцией в Приволжском федеральном округе / Н.Н. Носов, Е.Е. Альтова, Н.Н. Зайцева // Инновационные технологии в противоэпидемической защите населения : сб. материалов науч.-практ. конф. молодых ученых Роспотребнадзора, посвященную 90-летию со д. р. академика РАМН И.Н. Блохиной. – Н. Новгород : Б.и., 2011. – С. 35-36.
16. Кузоватова, Е.Е. Анализ летальности ВИЧ-инфицированных в Приволжском федеральном округе в 2005-2009 гг. / Е.Е. Кузоватова, Н.Н. Зайцева // Сб. тезисов III

ежегодного Всероссийского конгресса по инфекционным болезням. – М. : Б.и., 2011. – С. 197.

17. Зайцева, Н.Н. Основные причины смерти ВИЧ-инфицированных в ПФО в 2005-2009 гг. / Н.Н. Зайцева, Е.Е. Кузоватова // Сб. тезисов III ежегодного Всероссийского конгресса по инфекционным болезням. – М. : Б.и., 2011. – С. 134-135.

18. **Кузоватова, Е.Е. Анализ структуры и причин смерти ВИЧ-инфицированных в ПФО в 2005-2010 гг. / Е.Е. Кузоватова, Н.Н. Зайцева // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2012. – № 2. – С. 39-43.**

19. Анализ распространенности резистентных штаммов ВИЧ к антиретровирусным препаратам в ПФО / Н.Н. Зайцева, Е.И. Ефимов, Н.Н. Носов [и др.] // Итоги и перспективы обеспечения эпидемиологического благополучия населения РФ : сб. материалов X съезда ВНПОЭМП. Т. 2.– М. : Б.и., 2012. – С. 67-68.

20. Состояние работы по профилактике передачи ВИЧ от матери ребенку в ПФО / Н.Н. Зайцева, Е.Е. Кузоватова, Н.Н. Носов [и др.] // Здоровье-основа человеческого потенциала: проблемы и пути их решения : тр. VII Всероссийской науч.-практ. конф. с междунар. участием. – СПб. : Б.и., 2012. – С. 757-758.

21. **Профилактика перинатальной передачи ВИЧ в Приволжском федеральном округе / Н.Н. Зайцева, Е.Е. Кузоватова, Н.Н. Носов [и др.] // Медицинский альманах. – 2012. – № 3 (22). – С. 78-81.**

22. **Зайцева, Н.Н. ВИЧ-инфекция в Приволжском федеральном округе в 2011 году/ Н.Н. Зайцева, Е.Е. Альтова, Н.Н. Носов // Вестник Нижегородского университета им. Н.И. Лобачевского. – 2012. – № 2 (3). – С. 50-55.**

23. Зайцева, Н.Н. Результаты обследования населения Приволжского федерального округа на ВИЧ-инфекцию за 2011 год / Н.Н. Зайцева, Е.Е. Альтова, Н.Н. Носов // Научное обеспечение противоэпидемической защиты населения : сб. материалов науч.-практ. конф. Роспотребнадзора. – Н. Новгород : Б.и., 2012. – С. 111-115.

24. **Парфенова, О.В. Мутации, определяющие резистентность ВИЧ к антиретровирусной терапии в ПФО в 2008-2012 гг. / О.В. Парфенова, О.Ю. Пекшева, Н.Н. Зайцева // Медицинский альманах. – 2013. – № 2 (26). – С. 79-82.**

25. **Зайцева, Н.Н. Анализ распространенности резистентных штаммов ВИЧ к антиретровирусным препаратам в Приволжском федеральном округе / Н.Н. Зайцева, О.В. Парфенова, Е.И. Ефимов // Вопросы вирусологии. – 2013. – № 6. – С. 39-41.**

26. Зайцева, Н.Н. Лекарственная устойчивость ВИЧ к антиретровирусным препаратам в ПФО за период 2008-2012 гг. / Н.Н. Зайцева, О.В. Парфенова, О.Ю. Пекшева // Молекулярная эпидемиология актуальных инфекций : сб. междунар. конф., посвященной 90-летию Санкт-Петербургского Института им. Пастера. – СПб. : Б.и., 2013. – С. 130.

27. **Преаналитический этап в исследованиях по надзору за резистентными штаммами ВИЧ к антиретровирусным препаратам в Приволжском федеральном округе / Н.Н. Зайцева, Н.И. Иванова, О.В. Парфенова [и др.] // Клиническая лабораторная диагностика. – 2014. – № 12. – С. 48-50.**

28. **Электронный атлас в эпидемиологическом надзоре за ВИЧ-инфекцией / Н.Н. Зайцева, Е.И. Ефимов, Л.А. Солнцев [и др.] // Медицинский альманах. – 2014. – № 4 (34). – С. 63-67.**

29. Основные нарушения преаналитического этапа при проведении теста на лекарственную устойчивость ВИЧ-1 в ПФО / Н.Н. Зайцева, Н.И. Иванова, О.В. Парфенова [и др.] // 25 лет борьбы с ВИЧ/СПИДом в России и Чувашии : сб. науч.-практ. работ по профилактике и борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями. – Чебоксары : Б.и., 2014. – С. 14-16.

30. Современные молекулярно-генетические методы исследования в эпидемиологическом надзоре за ВИЧ-инфекцией [Электронный ресурс] / Н.Н. Зайцева, Е.И. Ефимов, Н.Н. Носов [и др.] // Медиаль. – 2014. – № 2 (12). – С. 122-134. – Режим доступа: <http://www.medial-journal.ru/ru/journal/issue-15/article-117.html>.

31. Зайцева, Н.Н. Эпидемия ВИЧ-инфекции в ПФО: особенности 2013 года / Н.Н. Зайцева, Е.Е. Альтова, Н.Н. Носов // Материалы Всероссийской науч.-практ. конф., посвященной 95-летию ФБУН ННИИЭМ им. академика И.Н. Блохиной. – Н. Новгород : Роспотребнадзор, 2014. – С. 252-255.
32. Носов, Н.Н. ВИЧ-инфекция в ПФО в 2014 году [Электронный ресурс] / Н.Н. Носов, Н.Н. Зайцева, Е.Е. Альтова // Информационный бюллетень. – 2014. – Т. 58. – Режим доступа: http://epid-atlas.nniiem.ru/txt_data/pdf/aid_pfo_2014_info.pdf.
33. Анализ резистентности ВИЧ в Приволжском федеральном округе Российской Федерации / Е.В. Казеннова, И.А. Лаповок, Н.Н. Зайцева [и др.] // ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии. – 2015. – Т. 7, № 3. – С. 56-66.
34. Современные молекулярно-генетические методы исследования в характеристике изолятов ВИЧ-1 инфицированных пациентов учреждений пенитенциарной системы / Н.Н. Зайцева, О.Ю. Пекшева, О.В. Парфенова [и др.] // Медицинский альманах. – 2015. – № 5 (40). – С. 148-151.
35. Носов, Н.Н. ВИЧ-инфекция в ПФО в 2015 году [Электронный ресурс] / Н.Н. Носов, Н.Н. Зайцева, Е.Е. Альтова // Информационный бюллетень. – 2015. – Т. 62. – Режим доступа: http://epid-atlas.nniiem.ru/txt_data/pdf/aid_pfo_2015_info.pdf.
36. Современные молекулярно-генетические технологии в мониторинге за циркуляцией субтипов ВИЧ-1 / Н.Н. Зайцева, Е.И. Ефимов, Н.Н. Носов [и др.] // Современные технологии в медицине. – 2016. – Т. 8, № 1. – С. 121-127.
37. Молекулярно-эпидемиологический мониторинг субтипов ВИЧ-1 в ПФО / Н.Н. Зайцева, Н.Н. Носов, О.В. Парфенова [и др.] // Актуальные вопросы ВИЧ-инфекции : материалы междунар. науч.-практ. конф. – СПб. : Изд-во «Человек и здоровье», 2016. – С. 259-260.
38. Зайцева, Н.Н. Анализ распространенности первичной резистентности ВИЧ к антиретровирусным препаратам в Приволжском федеральном округе / Н.Н. Зайцева, О.В. Парфенова, О.Ю. Пекшева // Медицинский Альманах – 2016. – № 3(43). – С. 93-95.
39. Опыт использования филогенетического анализа в эпидемиологическом расследовании криминального случая заражения ВИЧ-инфекцией / Н.Н. Зайцева, О.В. Парфенова, О.Ю. Пекшева [и др.] // Проблемы особо опасных инфекций. – 2016. – № 1. – С. 61-63.
40. Зайцева, Н.Н. ВИЧ-инфекция в ПФО в 2016 году [Электронный ресурс] / Н.Н. Зайцева, Е.Е. Альтова, Е.Е. Кузватова // Информационный бюллетень. – 2016. – Т.66. – Режим доступа: http://epid-atlas.nniiem.ru/txt_data/pdf/aid_pfo_2016_info.pdf.
41. HIV-1 genotyping tropism profile in an HIV-positive population throughout the Russian Federation [Electronic resource] / A. Lopatukhin, D. Kireev, N. Zaytseva [et al.] // Cogent medicine. – 2017. – 31 March. – Mode of access: <https://www.cogentoa.com/article/10.1080/2331205X.2017.1311470/references>.
42. Зайцева, Н.Н. Распространенность аллели HLA-B* 5701 среди ВИЧ-инфицированных пациентов в Приволжском федеральном округе / Н.Н. Зайцева, Т.Ю. Бутина, И.В. Кузнецова // Молекулярная диагностика-2017 : сб. тр. IX Всероссийской науч.-практ. конф. с междунар. участием. Т. 1. – М. : Б.и., 2017. – С. 482-483.
43. Парфенова, О.В. Субтипы ВИЧ-1 и мутации лекарственной устойчивости к препаратам АРВТ в Приволжском федеральном округе / О.В. Парфенова, О.Ю. Пекшева, Н.Н. Зайцева // Молекулярная диагностика-2017 : сб. тр. IX Всероссийской науч.-практ. конф. с междунар. участием. Т. 1. – М. : Б.и., 2017. – С. 467-468.
44. Электронный эпидемиологический атлас Приволжского федерального округа : свидетельство о государственной регистрации базы данных № 2015621143 Рос. Федерация / Л.А. Солнцев, Н.Н. Зайцева, В.И. Ершов, Е.И. Ефимов ; заявитель и правообладатель ФБУН ННИИЭМ им. академика И.Н. Блохиной Роспотребнадзора. – № 2015620666/69 ; заяв. 05.06.2015 ; зарег. в реестре баз данных 24.07.2015.

45. Анализ лекарственной устойчивости ВИЧ. Клинические рекомендации / М.Р. Бобкова, Л.А. Грезина, Н.Н. Зайцева [и др.] // *Лабораторная служба*. – 2017. – Т. 6, № 3. – С. 217-237.

46. Зайцева, Н.Н. Молекулярно-генетическая экспертиза при подозрении на профессиональное инфицирование ВИЧ / Н.Н. Зайцева, О.В. Парфенова, О.Ю. Пекшева // Обеспечение эпидемиологического благополучия: вызовы и решения : материалы XI съезда Всероссийского науч.-практ. Общества эпидемиологов, микробиологов и паразитологов (Москва, 16-17 ноября 2017 г.). – М. : Б.и., 2017. – С. 462.

47. Солнцев, Л.А. Электронная система хранения, представления и анализа информации в масштабе федерального округа / Л.А. Солнцев, Н.Н. Зайцева, Е.И. Ефимов // *Современные технологии в медицине*. – 2017. – Т. 9, № 4. – С. 170-176.

Список сокращений и условных обозначений

АРВП – антиретровирусные препараты	СПИД – синдром приобретенного иммунодефицита
АРВТ – антиретровирусная терапия	Территориальные центры СПИД ПФО - территориальные центры по профилактике и борьбе со СПИД и ИЗ ПФО
ВИЧ – вирус иммунодефицита человека	ФБУЗ ЦГиЭ – Федеральное бюджетное учреждение здравоохранения «Центр гигиены и эпидемиологии»
ВОЗ – Всемирная Организация Здравоохранения	ФБУН - Федеральное бюджетное учреждение науки
ГИС – геоинформационные системы	ФГАНУ – Федеральное государственное автономное научное учреждение
ГУФСИН – Главное управление Федеральной службы исполнения наказаний	ФГБОУ ВО НижГМА – Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования Нижегородская государственная медицинская академия
ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота	ЦНИИ эпидемиологии – Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии
ИБ – иммунный блоттинг	ЮНЭЙДС - Международная программа Организации Объединенных Наций по ВИЧ/СПИДу
ИЗ – инфекционные заболевания	ЗТС - ламивудин
ИП – ингибиторы протеазы ВИЧ	АВС – абакавир
ИФА – иммуноферментный анализ	ddI - диданозин
ЛЖВ – люди, живущие с ВИЧ	DLV – делавирдин
МВД – Министерство внутренних дел	DRV - дарунавир
МЗ – Министерство здравоохранения	EFV – эфавиренц
НИОТ – нуклеозидные ингибиторы обратной транскриптазы ВИЧ	FTC – эмтрицитабин
НИР – научно-исследовательская работа	NFV - нельфинавир
ННИИЭМ – Нижегородский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии	NVP – невирапин
ННИОТ - ненуклеозидные ингибиторы обратной транскриптазы ВИЧ	RPV - рилпивирин
ПАВ – психоактивные вещества	PR (protease) – протеаза
ПИН – потребители инъекционных наркотиков	RT (reverse transcriptase) – обратная транскриптаза
ПФО – Приволжский федеральный округ	SQV – саквинавир
ПЦР – полимеразная цепная реакция	
Роспотребнадзор – Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека	
РНК – рибонуклеиновая кислота	
РФ – Российская Федерация	
СНГ – Содружество Независимых Государств	