

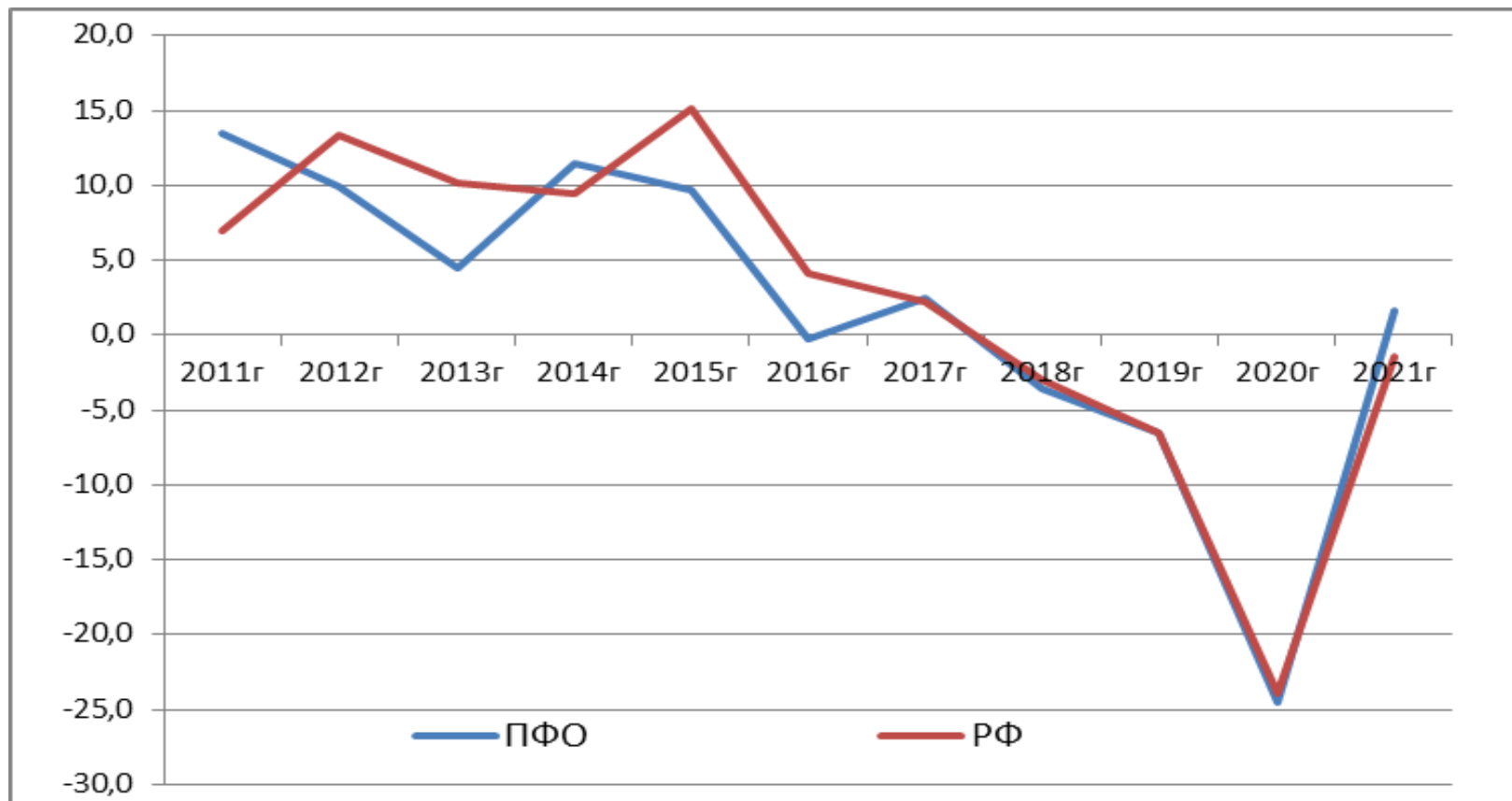
**ФБУН «Нижегородский научно-исследовательский институт  
эпидемиологии и микробиологии им. академика И.Н. Блохиной»  
Роспотребнадзора  
Приволжский окружной центр по профилактике и борьбе со СПИД**

# **Исследование мутаций лекарственной устойчивости ВИЧ к ингибиторам интегразы в ПФО**

**Пекшева О.Ю., Парфенова О.В., Кузоватова Е.Е., Зайцева Н.Н.**

**Региональная научно-практическая конференция  
«Актуальные проблемы ВИЧ-инфекции. Организация лабораторной диагностики  
ВИЧ-инфекции и хронических вирусных гепатитов»  
Нижний Новгород, 09.02.2023 г.**

## Темп прироста числа новых случаев ВИЧ-инфекции в ПФО и РФ за период 2011-2021 гг.



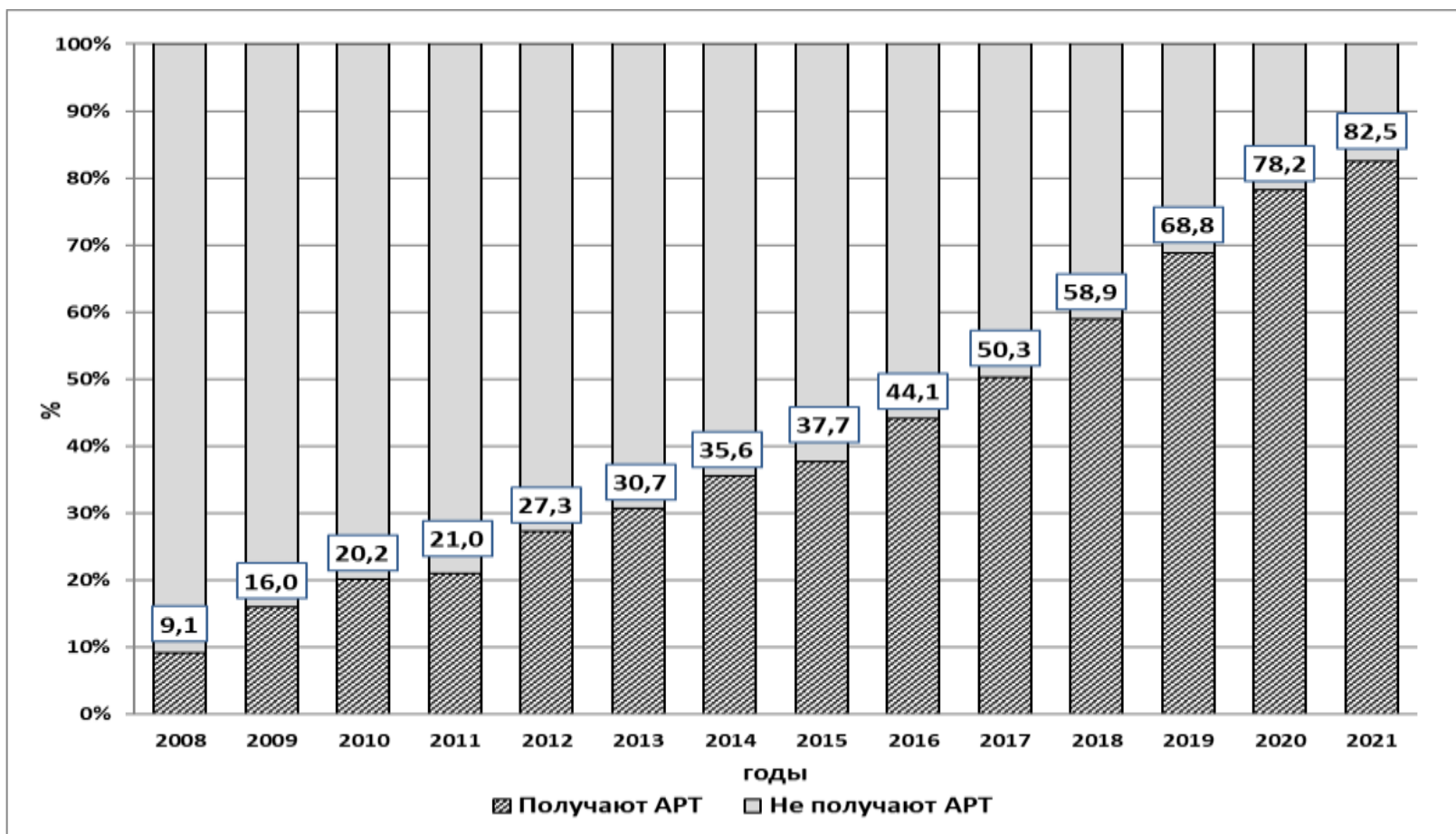
# **ГОСУДАРСТВЕННАЯ СТРАТЕГИЯ противодействия распространению ВИЧ-инфекции в Российской Федерации до 2030 г.**

Цель Стратегии - предупреждение развития эпидемии путем снижения числа новых случаев заражения ВИЧ-инфекцией среди населения и снижения смертности от СПИДа.

Одним из важнейших путей достижения цели является увеличение охвата антиретровирусной терапией (АРТ) лиц, зараженных ВИЧ.

АРТ – позволяет добиться контролируемого течения заболевания, то есть состояния, при котором, несмотря на невозможность полного излечения, удается остановить прогрессирование болезни, предотвратить развитие вторичных заболеваний или добиться их регресса, потерю трудоспособности, увеличить продолжительность жизни пациента, снизить его контагиозность.

# Охват АРТ ВИЧ-инфицированных пациентов, из числа состоявших на диспансерном наблюдении, в ПФО в 2008-2021 гг.



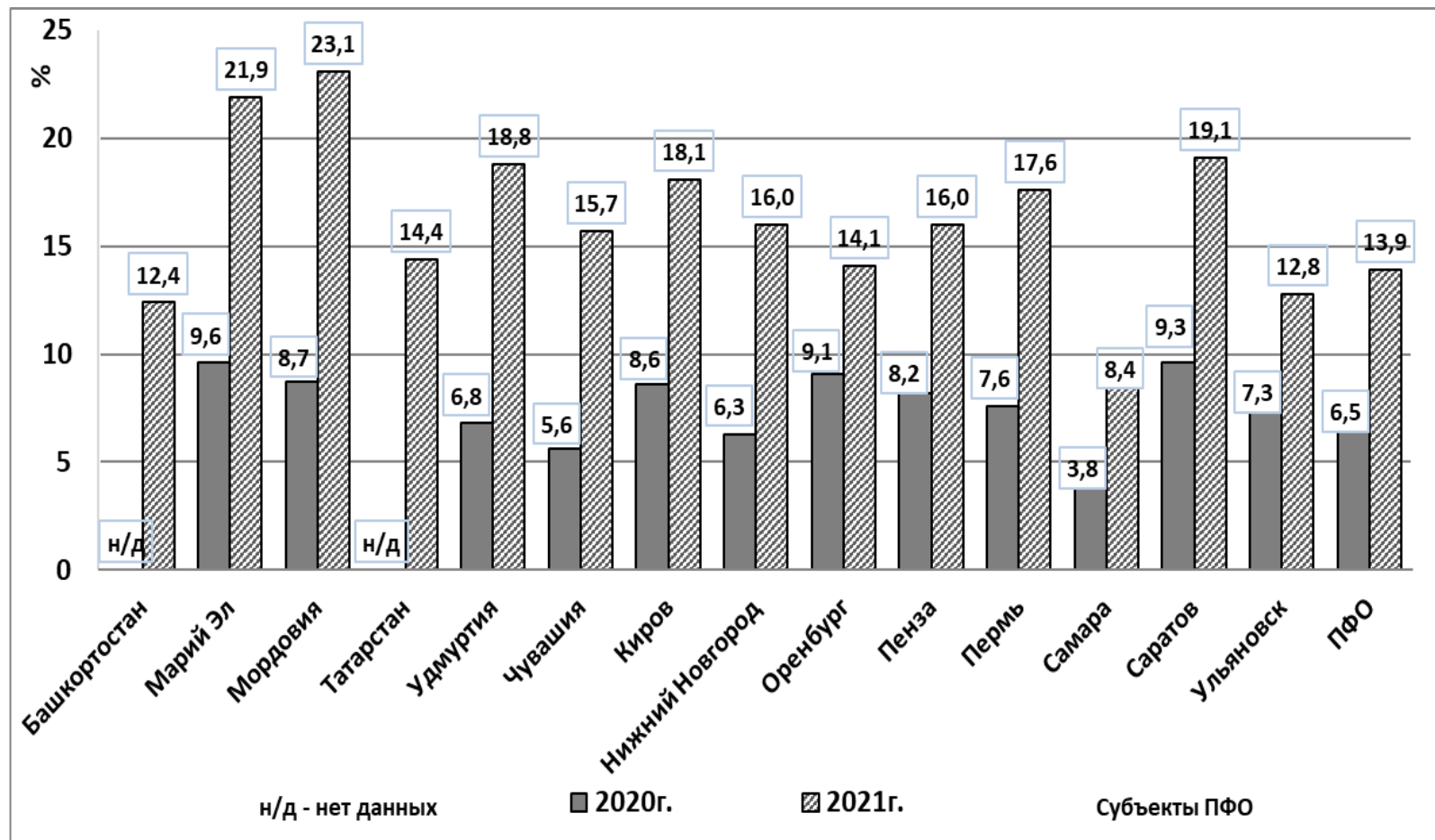
# Факторы, влияющие на формирование мутаций , вызывающих устойчивость ВИЧ к антиретровирусным препаратам (АРП)

- факторы, связанные с АРТ и ее схемами - неправильно подобранные схемы лечения, генетический и фармакологический барьер резистентности, неверная дозировка, взаимодействие с иными лекарственными препаратами, сложные схемы приема АРП;
- факторы, связанные с пациентом – несоблюдение приверженности с нарушением режима приема АРП, в том числе обусловленное стигмой и дискриминацией ВИЧ-инфицированных, развитие побочных эффектов, тропизм, наличие аллели HLA-B\*5701;
- факторы, связанные с вирусом - высокая репликативная активность вируса, наличие у пациента резистентных штаммов до начала АРТ, подтип ВИЧ;
- факторы, связанные с организацией лечения – несовершенная система закупок и поставок АРП, дефицит кадров, неразвитая инфраструктура лечебных учреждений, снижение доступа для пациентов к различным видам медицинской помощи, высокая цена препаратов, проблемы назначения АРТ при смене места жительства, несоблюдение протоколов и стандартов лечения в части тестирования на лекарственную устойчивость ВИЧ.

## **Особенности препаратов класса ингибиторов интегразы ВИЧ**

- **Доказанная длительная эффективность**
- **Хорошая переносимость**
- **Минимальный спектр побочных явлений**
- **Минимальные отдаленные последствия терапии**
- **Эффективны и безопасны для разных групп пациентов**
- **Возможен одновременный прием с другими лекарственными средствами**
- **Имеют удобные для пациента формы и режимы дозирования**

# Охват пациентов АРТ, содержащей ингибиторы интегразы ВИЧ, в субъектах ПФО в 2020-2021 гг.



# Перечень препаратов группы ингибиторов интегразы, рекомендованных для АРТ, 2022 г.

| Международное Непатентованное Наименование (МНН)  | Регистрация в РФ | Регистрация в FDA | Торговое название | Форма выпуска   |
|---|------------------|-------------------|-------------------|---|
| <b>Ралтегравир, (RAL)</b>   | 2008 г.          | 2007 г.           | Исентресс         | Таблетки 400 мг, 600 мг<br>1 таблетка 2 раза в сутки                  |
| <b>Элвитегравир, (EVG)</b>  | -                | 2012 г.           | Витекта           | Таблетки 85 и 150 мг<br>1 таблетка 1 раз в сутки                      |
| Кобицистат + Тенофовира дизопроксил+<br><b>Элвитегравир+Эмтрицитабин, (/COBI/TDF/EVG/FTC)</b> | -                | 2012 г.           | Стрибилд          | Таблетки<br>150 мг+ 50 мг+ 200 мг+ 245 мг<br>1 таблетка 1 раз в сутки |
| <b>Долутегравир, (DTG)</b>  | 2014 г.          | 2013 г.           | Тивикай           | Таблетки 50мг<br>1 таблетка 1 раз в сутки                             |
| Абакавир + <b>Долутегравир</b> + Ламивудин,<br><b>(ABC/DTG/ЗТС)</b>                           | -                | 2014 г.           | Триумек           | Таблетки 600 мг+ 50 мг+300 мг<br>1 таблетка 1 раз в сутки             |
| Кобицистат + Тенофовира алафенамид +<br><b>Элвитегравир+Эмтрицитабин, (COBI/TAF/EVG/FTC)</b>  | 2019 г.          | 2015 г.           | Генвоя            | Таблетки<br>150 мг+10 мг+150 мг+200 мг<br>1 таблетка 1 раз в сутки    |
| <b>Биктегравир</b> + Эмтрицитабин + Тенофовира алафенамид,<br><b>(BIC/FTC/TAF)</b>            | 2020 г.          | 2018 г.           | Биктарви          | Таблетки<br>50 мг+25 мг+150 мг+200 мг<br>1 таблетка 1 раз в сутки     |
| <b>Долутегравир</b> + Рилпивирин,<br><b>(DTG/RPV)</b>   | 2021 г.          | 2017 г.           | Джулука           | Таблетки 50 мг+ 25 мг<br>1 таблетка 1 раз в сутки                     |
| <b>Долутегравир</b> + Ламивудин,<br><b>(DTG/ЗТС)</b>  | 2021 г.          | 2019 г.           | Довато            | Таблетки 50 мг+ 300 мг<br>1 таблетка 1 раз в сутки                    |
| <b>Каботегравир, (CAB)</b>  | -                | 2021 г.           | Вокабрия          | Таблетки 30 мг<br>1 таблетка 1 раз в сутки                            |
| <b>Каботегравир</b> + Рилпивирин,<br><b>(CAB/RPV)</b>   | -                | 2021 г.           | Кабенува          | инъекции в/м 200мг + 300 мг<br>1 раз в месяц, затем 1 раз в 2 месяца  |



# Этапы исследования резистентности ВИЧ к ингибиторам интегразы

- Экстракция вирусной РНК;
- Постановка реакции обратной транскрипции РНК и I-го раунда амплификации кДНК гена интегразы (int) ВИЧ 1;
- Проведение II-го раунда амплификации кДНК гена интегразы (int) ВИЧ 1;
- Подготовка и проведение секвенирования:
  - очистка продуктов амплификации от не включившихся нуклеотидов и праймеров;
  - оценка концентрации очищенных продуктов амплификации с помощью электрофоретической детекции в агарозном геле;
  - проведение реакции циклического секвенирования с использованием четырех специфических праймеров – int 1, int 2, int 3, int 4;
  - очистка продуктов реакции секвенирования;
  - автоматическая детекция нуклеотидной последовательности (секвенирование) с помощью генетических анализаторов



# Анализ и интерпретация результатов исследования лекарственной устойчивости ВИЧ к ингибиторам интегразы

Сборка полученных нуклеотидных последовательностей в консенсную последовательность и ее анализ осуществляется с помощью программного обеспечения «АмплиСенс® Resist» ФБУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора.

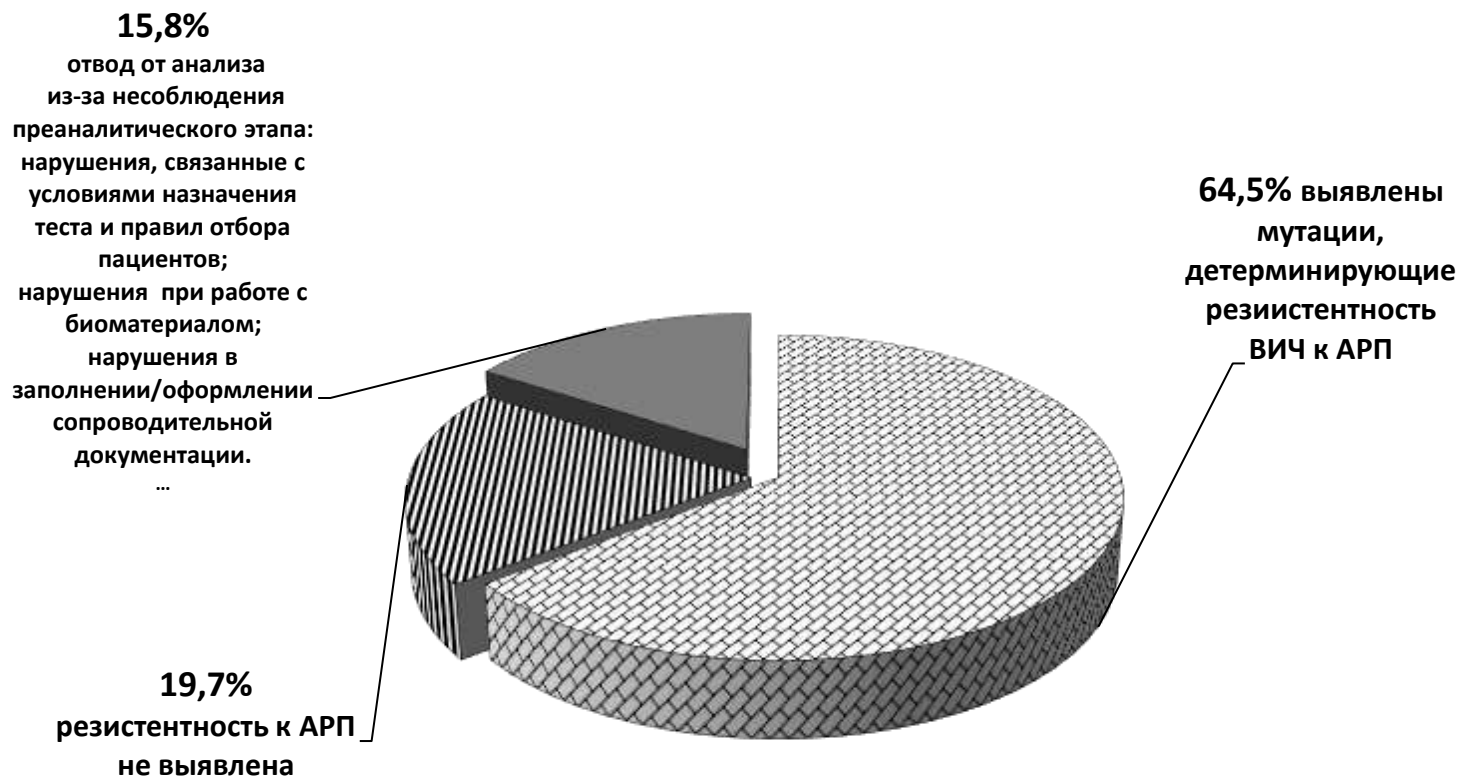


Клиническая интерпретация полученных результатов осуществляется через интеграцию с базой данных Стэнфордского университета в режиме реального времени: (<http://www.hivdb.stanford.edu/>)

- - выявление мутаций в генах ВИЧ, приводящих к развитию лекарственной устойчивости;
- - определение резистентности к определенным антиретровирусным препаратам.



# Результаты исследования лекарственной устойчивости ВИЧ в ПФО в период 2016 -2021 гг.



# **Условия назначения теста и правила отбора пациентов на исследование лекарственной устойчивости ВИЧ к ингибиторам интегразы**

- для выявления резистентности отбираются образцы от пациентов с вирусологической неэффективностью лечения в соответствии с протоколами и стандартами оказания медицинской помощи ВИЧ-инфицированным;
- при назначении исследования необходимо учитывать приверженность ВИЧ-инфицированных терапии;
- исследование выполняется на фоне применения АРТ;
- недопустимо проведение исследования сразу после замены одной схемы терапии на другую и/или после перерыва в лечении (более двух недель);
- вирусная нагрузка в образце должна быть не менее 1000 коп/мл;
- определение вирусной нагрузки должно проводиться в момент взятия крови на исследование лекарственной устойчивости или в течение не более двух недель до момента проведения теста;
- сроки направления образцов на исследование не должны превышать двух недель после забора крови.

## Подготовка материала для исследования на резистентность ВИЧ к ингибиторам интегразы

- 5 мл венозной крови собираются в стерильную пробирку с антикоагулянтом EDTA (например, Vacutainer) и сразу перемешиваются переворачиванием 8-10 раз;
- пробирки, содержащие гепарин, не подходят для данной методики;
- плазма отделяется в течение 30 минут после забора крови;
- пробирки центрифугируются 20 минут при 1000–2000 g при комнатной температуре (от +15°C до +25°C);
- для исследования отбирается плазма крови не менее 1000 мкл в двух аликвотах по 500 мкл, в криопробирки с завинчивающимися крышками с уплотнительным кольцом;
- транспортировка плазмы должна осуществляться при температуре от +2°C до +8°C в течение 24-48 часов, а замороженные образцы - при температуре –70°C на сухом льду;
- образцы плазмы до проведения теста можно хранить при температуре от –65°C до –80°C;
- не допускается многократное замораживание и оттаивание образцов.

## Мутации в гене интегразы ВИЧ, детерминирующие резистентность к ингибиторам интегразы, у «наивных» пациентов

| Препарат  | Первичные мутации                             | Вторичные мутации  |
|---|---|--|
| ИИ - первое поколение<br>низкий генетический барьер, высокая степень перекрестной устойчивости  |   |  |
| RAL   | Q148H/K/R; N155H;<br>Y143C/R/H                | L74M; E92Q; T97A; E138A/K/T; G140A/C/S;<br>V151I; G163R                |
| EVG   | Q148H/K/R; N155H;<br>Y143C/R/H; T66A/I/K;E92Q | H51Y; F121Y; S147G; S153Y; E157Q; R263K                                |
| ИИ - второе поколение, высокий генетический барьер  |   |  |
| DTG   | R263K; G118R; N155H                           | L74L/M; E92Q; T97A; I60L; E138A/K/T;<br>G140A/C/S; Y143H; S147G; E157Q |
| BIC   | R263K   | M50I   |
| CAB   | Q148H/K/R; G140R; R263K; 118R                 | N155H; G140A/C/S; S153Y; E138A/K/T; T66K                               |
| «HIV drug resistance against strand transfer integrase inhibitors», Kaitlin Anstett <sup>1</sup> , Bluma Brenner, Thibault Mesplede and Mark A. Wainberg, <i>Retrovirology</i> (2017) 14(1) DOI 10.1186/s12977-017-0360-7 |   |  |

## Генетические механизмы резистентности к DTG

- Молекулы DTG обладают замедленной диссоциацией, т.е. способны очень тесно и длительно контактировать с активным центром интегразы (до одной недели), блокируя ее.
- DTG способен эффективно ингибировать большинство мутантных штаммов ВИЧ, устойчивых к ингибиторам интегразы первого поколения, за исключением ВИЧ с мутацией Q148R/H.
- Высокий риск вирусологической неудачи лечения DTG наблюдается среди пациентов, ранее получавших терапию ИИ первого поколения. Наличие в геноме ВИЧ мутации Q148R/H в сочетании, по меньшей мере, с двумя вторичными мутациями E138K +/- G140A/C/S, образованными в ходе лечения RAL и EVG, вызывает высокий уровень устойчивости и к DTG.

## Материалы и методы исследования

- Образцы плазмы крови от ВИЧ-инфицированных пациентов из Республики Мордовия, Чувашской Республики, Нижегородской, Ульяновской областей.
- Секвенирование амплифицированных фрагментов области интегразы *int* гена *pol* ВИЧ проводилось с использованием тест-системы «Ампли Сенс HIV-Resist-Seq» ФБУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора.
- Генотипирование ВИЧ осуществляли через интеграцию с базой данных Стэнфордского университета в режиме реального времени <http://hivdb.stanford.edu>.



## Сочетания мутаций, выявленные у пациентов, получавших схемы АРТ с ингибиторами интегразы в ПФО

| Количество пациентов | Схема АРТ<br>(длительность терапии с ИИ)   | Сочетание мутаций               | Устойчивость вируса к ИИ  |
|----------------------|--|---------------------------------|---|
| 3                    | <ol style="list-style-type: none"> <li>1. TDF+3TC+DTG (3 мес.)</li> <li>2. DRV/r+ RAL (3 г.)</li> <li>3. DRV/r+3TC+RAL (1 г.)</li> </ol>   | T97A, L74I                      | EVG, RAL - возможна низкая устойчивость   |
| 2                    | <ol style="list-style-type: none"> <li>1. AZT/3TC+ RAL (1 г. 2 мес.)</li> <li>2. ABC+3TC+RAL (6 мес.)</li> </ol>   | Y140S+L74I;<br>Y143R+L74I       | EVG - средняя устойчивость<br>RAL - высокая устойчивость                        |
| 4                    | <ol style="list-style-type: none"> <li>1. DRV/r+ RAL (через 4 мес.) TDF+3TC+DRV/r (через 4 мес.) DRV/r+ 3TC+RAL</li> <li>2. TDF+3TC+ DTG (через 1 г. 6 мес.) RAL+ AVT/r</li> <li>3. TDF+3TC+ RAL (8 мес.)</li> <li>4. ABC+3TC + RAL (через 4 г.) «Генвоя»</li> </ol> | Y143CR+T97A+L74I                | RAL, EVG - высокая устойчивость<br>BIC, CAB, DTG - возможна низкая устойчивость |
| 1                    | ABC +3TC+ RAL (через 3 г.)   | N155H+T97A+L74I                 | RAL, EVG - высокая устойчивость   |
| 2                    | <ol style="list-style-type: none"> <li>1. AZT/3TC + RAL (3 г.)</li> <li>2. TDF+3TC + RAL (10 мес.)</li> </ol>  | Q148R+G140A+L74I                | CAB, EVG, RAL - высокая устойчивость<br>BIC, DTG – средняя устойчивость         |
| 1                    | TDF+3TC+RAL (через 6 мес.) DRV/r+ RAL (через 6 мес.)<br>DRV/r+DTG (через 8 мес.)<br>FPV/r+ RAL   | Q148R+E138K+<br>G140A+L74I      | BIC, CAB, DTG, EVG, RAL - высокая устойчивость                                  |
| 1                    | ABC +3TC+ DTG (2 мес.)   | R263RK                          | DTG – средняя устойчивость  |
| 1                    | AZT/3TC+DTG (2 г.)   | E138K+T66A+<br>G118R+E157Q+L74I | BIC, CAB, DTG, EVG, RAL - высокая устойчивость                                  |

# Основные рекомендации

- 1. Четкое выполнение протоколов и стандартов оказания медицинской помощи ВИЧ-инфицированным специалистами лабораторно-диагностического и клинического профиля центров ПБ СПИД и ИЗ.
- 2. Информирование врачей-клиницистов о соблюдении выполнения правил преаналитического этапа - условий назначения теста и особенностей отбора пациентов, требований подготовки, хранения и транспортировки биоматериала для проведения исследований на резистентность ВИЧ, оформления сопроводительной документации.
- 3. Понимание специалистами лабораторного и клинического профиля особенностей выполнения теста на лекарственную устойчивость ВИЧ (высокотехнологичный, экономически затратный, длительный, требует высокой квалификации персонала).
- 4. Осуществление систематического мониторинга как передающейся, так и приобретенной резистентности вируса к препаратам класса ингибиторов интегразы на фоне увеличения охвата ВИЧ-инфицированных пациентов АРТ с использованием данных препаратов:
  - расширение применения ингибиторов интегразы второго поколения, как препаратов, препятствующих формированию и распространению лекарственной устойчивости к ИИ в схемах лечения ВИЧ-инфицированных.
  - перед назначением препаратов класса ингибиторов интегразы необходимо проведение исследований на лекарственную устойчивость ВИЧ;
  - в случае замены препаратов с одинаковым генетическим барьером (например, EFV на RAL) требуется проведение исследований на резистентность ВИЧ к новому компоненту схемы;
  - при замене препаратов первого поколения (RAL или EVG) на DTG необходимо осуществление исследований на резистентность с целью формирования и распространения штаммов ВИЧ, устойчивых к ингибиторам интегразы второго поколения.

**Благодарю за внимание**