

**МОНИТОРИНГ ВЫДЕЛЕННЫХ
ГРАМ-ПОЛОЖИТЕЛЬНЫХ И ГРАМ-
ОТРИЦАТЕЛЬНЫХ ОРГАНИЗМОВ
И ИХ АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТЬ
В ХМЕЛЬНИЦКОЙ ОБЛАСТНОЙ БОЛЬНИЦЕ
ЗА 2009 ГОД**

*А.С. Флаксемберг, О.О. Пидмурняк, Л.С. Шевчишина,
Т.В. Мота, Л.О. Голдаковска*

На основе исследований видового состава наиболее актуальных возбудителей инфекционной патологии у больных хирургического профиля, проведенных в Хмельницкой областной больнице в 2009 году определена чувствительность доминирующих микроорганизмов к антибактериальным препаратам, применяемых согласно современных протоколов лечения.

**MONITORING OF ALLOCATED GRAM-POSITIVE
AND GRAM-NEGATIVE ORGANISMS AND THEIR
ANTIBIOTIC-RESISTANT IN KHMELNITSKIY
REGIONAL HOSPITAL FOR 2009**

*A.S. Flaksemsberg, O.O. Pidmurniak, L.S. Shevchyshyna,
T.V. Mota, L.O. Goldakivska*

Based on studies of species of the most pressing agents of infectious diseases in surgical patients profile of the Khmelnytsky Region Hospital in 2009 sensitivity was determined to dominant microorganism's antibacterial drugs used by modern treatment protocols.

УДК 616.9.579.828.:616.921.5.:616.9.578.8.25.12-07

**М.Г. Люльчук, С.І. Доан,
Н.О. Бабій, А.М. Щербінська**

**ВСТАНОВЛЕННЯ ЧАСТОТИ
ВІРУСОЛОГІЧНОЇ НЕЕФЕКТИВНОСТІ
АНТИРЕТРОВІРУСНОЇ ТЕРАПІЇ
ВІЛ-ІНФІКОВАНИХ ПАЦІЄНТІВ
З РІЗНОЮ ЇЇ ТРИВАЛІСТЮ**

*ДУ "Інститут епідеміології та інфекційних хвороб
імені Л.В. Громашевського АМН України", м. Київ*

За даними об'єднаної програми ООН з ВІЛ/СНІДу в світі щоденно інфікується 7400 осіб і майже 6000 — помирає від хвороб, обумовлених СНІДом [7]. В медичному аспекті відповідь на епідемію лежить у площині пошуку нових шляхів у профілактиці ВІЛ, лікуванні та догляді хворих на СНІД, розробці простих і доступних режимів лікування. Розробка принципів високоактивної антиретровірусної терапії (АРВ-терапії), яка полягає в одночасному застосуванні трьох або чотирьох антиретровірусних препаратів, дозво-

лила більш ефективно контролювати прогресування хвороби, суттєво знизити смертність від СНІДу [5, 8].

Метою АРВ-терапії є максимальне пригнічення реплікації ВІЛ, і, як наслідок, збільшення тривалості та покращення якості життя ВІЛ-інфікованих осіб за рахунок досягнення клінічної, імунологічної та вірусологічної ефективності лікування. Ефективність АРВ-терапії має також профілактичне значення, оскільки при зниженні вірусного навантаження (ВН) ВІЛ до не визначального рівня суттєво зменшується ризик передачі ВІЛ статевим шляхом від пацієнта до пацієнта та вертикальним шляхом від матері до дитини [4].

Одним із показників ефективності АРВ-терапії є рівень ВН ВІЛ. Це — найперший індикатор успіху або невдачі лікування. Встановлено, що при низькому рівні ВН (менше 40–50 РНК-копій/мл) формування резистентних штамів вірусу не відбувається — це найбільш вагомий аргумент на користь підтримки ВН на низькому рівні впродовж тривалого часу [4]. Згідно з "Клінічним протоколом антиретровірусної терапії ВІЛ-інфекції у дорослих та підлітків", затвердженим Наказом МОЗ України № 551 від 12.07.2010 р., рівень ВН ВІЛ у пацієнтів, які отримують АРВ-терапію має визначатися кожні 6 місяців (24 тижні) за умови стабільної клінічної ситуації [3]. Ознакою ефективної терапії протягом перших 4 тижнів є швидке зниження рівня РНК ВІЛ (α -спад) внаслідок дії лікарських препаратів на вільні віріони ВІЛ у плазмі крові, та на ВІЛ в інфікованих CD4-лімфоцитах. Надалі відбувається наступне зниження ВН (β -спад) за рахунок противірусної дії препаратів на уражені вірусом макрофаги та інші резервуари ВІЛ, включаючи дендритні клітини лімфатичних фолікулів. β -спад є більш тривалим та менш вираженим. Максимальний противірусний ефект в цьому випадку очікується через 4–6 місяців [1].

Нездатність досягти зменшення ВН ВІЛ до незначального рівня (нижче 40–50 копій/мл) може свідчити про вірусологічну неефективність (або невдачу) АРВ-терапії. Причинами вірусологічної невдачі лікування можуть бути порушення режиму прийому препаратів, недоліки у виборі схеми АРВ-терапії, формування резистентності вірусу до АРВ-препаратів. В цьому випадку необхідно встановити можливі причини невдачі лікування для вибору тактики подальшого ведення пацієнта.

Метою роботи було визначити частоту вірусологічної неефективності протівірусної терапії у хворих на СНІД пацієнтів, які отримували АРВ-терапію в різних регіонах України протягом 6 та 12 місяців.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Для встановлення вірусологічної ефективності АРВ-терапії, визначено рівень ВН ВІЛ у зразках плазми крові 539 ВІЛ-інфікованих пацієнтів, які знаходились на АРВ-терапії протягом 6 місяців та у 483 зразках крові пацієнтів, які отримували АРВ-терапію впродовж 12 місяців. Зразки периферичної крові ВІЛ-інфікованих осіб отримували з центрів профілактики та боротьби зі СНІДом АР Крим, Дніпропетровської, Донецької, Миколаївської, Одеської областей та м. Києва.

Визначення рівня ВН за кількістю РНК-копій ВІЛ в 1 мл плазми крові проводили методом зворотної транскрипції і полімеразної ланцюгової реакції (ЗТ-ПЛР) з використанням комерційних тест-систем “RealTime HIV-1”(Abbott) [2, 6]. Аналітична чутливість зазначеної тест-системи знаходилась в межах від 40 до 10000000 РНК-копій/мл.

У процесі пробопідготовки до кожного досліджуваного зразку вносили внутрішній контрольний зразок (послідовність РНК, не споріднена з РНК ВІЛ, яка дозволяє стежити за правильністю проходження процесу ЗТ-ПЛР).

Концентрація РНК ВІЛ у зразках та контролі обчислювалася за допомогою калібрувальної кривої. Результати дослідження враховувались у РНК-копій/мл.

Показником вірусологічної ефективності АРВ-терапії вважається рівень ВН ВІЛ менше 40 РНК-копій/мл.

Рівень ВН ВІЛ, що знаходиться в межах від 40 до 1000 РНК-копій/мл — це так званий “бліп” або тимчасове зростання ВН ВІЛ вище рівня, що відповідає межі чутливості тест-системи. В цьому випадку пацієнтів рекомендується обстежити повторно через 4 тижні після попереднього тестування [5].

Показником вірусологічної неефективності лікування є рівень ВН вище 1000 РНК-копій/мл через 6 місяців від початку АРВ-терапії.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Встановлено, що у переважній більшості (69,57±1,98%) ВІЛ-інфікованих пацієнтів, які знаходились на АРВ-терапії більше 6 місяців рівень ВН ВІЛ не перевищував 40 РНК-копій/мл, що свідчило про ефективність призначених схем АРВ-терапії (табл. 1).

У 133 осіб (24,68±1,86%) через 6 місяців від початку лікування показники ВН ВІЛ коливались від 40 до 1000 РНК-копій/мл.

У 31 (5,75±1,00%) пацієнта через 6 місяців від початку терапії виявлено рівень вмісту РНК

Таблиця 1

Показники рівня вірусного навантаження ВІЛ у ВІЛ-інфікованих пацієнтів дослідної групи через 6 місяців після початку антиретровірусної терапії

Центр СНІДу		Рівень вірусного навантаження ВІЛ, РНК-копій/мл			
		<40	від 40 до 1000	>1000	Всього
Кримський республіканський	абс.	69	12	6	87
	M±m, %	79,31±4,34	13,79±3,70	6,90±2,72	
Дніпропетровський обласний	абс.	53	21	1	75
	M±m, %	70,67±5,26	28,00±5,18	1,33±1,32	
Донецький обласний	абс.	83	13	2	98
	M±m, %	84,69±3,64	13,27±3,43	2,04±1,43	
Миколаївський обласний	абс.	47	32	9	88
	M±m, %	53,41±5,32	36,36±5,13	10,23±3,23	
Одеський обласний	абс.	59	34	6	99
	M±m, %	59,60±4,93	34,34±4,77	6,06±2,40	
Київський міський	абс.	64	21	7	92
	M±m, %	69,57±4,80	22,83±4,38	7,61±2,76	
Загалом	абс.	375	133	31	539
	M±m, %	69,57±1,98	24,68±1,86	5,75±1,00	

**Результати повторного обстеження пацієнтів, які 6 місяців приймали антиретровірусної терапії,
з рівнем вірусного навантаження ВІЛ від 40 до 1000 РНК-копій/мл**

Центр СНІДу		Рівень вірусного навантаження ВІЛ, РНК-копій/мл				
		<40	від 40 до 1000	>1000	невідомо	Всього
Кримський республіканський	абс.	4	4	2	2	12
Дніпропетровський обласний	абс.	13	1	0	7	21
Донецький обласний	абс.	9	4	0	0	13
Миколаївський обласний	абс.	21	5	1	5	32
Одеський обласний	абс.	20	7	3	4	34
Київський міський	абс.	11	5	0	5	21
Загалом	абс.	78	26	6	23	133
	M±m, %	58,65±4,27	19,55±3,44	4,51±1,80	17,29±3,28	

ВІЛ в плазмі крові більше 1000 РНК-копій/мл, що вказувало на вірусологічну неефективність застосованих схем АРТ.

Треба відзначити, що із 133 пацієнтів з рівнем ВН ВІЛ в межах від 40 до 1000 РНК-копій/мл, 110 осіб (82,71±3,28%) були через 4 тижні обстежені повторно (табл. 2). При повторному обстеженні встановлено, що у 78 осіб (58,65±4,27%) рівень ВН ВІЛ зменшився до незначального (<40 РНК-копій/мл), що вказувало на те, що попереднє зростання рівня ВН мало тимчасовий характер. Підвищення рівня ВН може бути пов'язано з особливостями реплікації ВІЛ, а також з погіршенням клінічного та імунологічного стану пацієнта [5].

У 26 осіб (19,55±3,44%) при повторному обстеженні показники ВН ВІЛ знову коливались від 40 до 1000 РНК-копій/мл. “Бліпи”, які часто повторюються, можуть бути зумовлені недостатньою ефективністю АРВ-препаратів, а також формуванням резистентності вірусу до АРВ-препаратів. Згідно “Клінічного протоколу АРВ-терапії ВІЛ-інфекції у дорослих та підлітків” пацієнти з рівнем ВН ВІЛ від 40 до 1000 РНК-копій/мл (за результатами двох послідовних досліджень, проведених з інтервалом не менше 4 тижнів, але не більше 12 тижнів) мають розглядатися як кандидати на посилення або заміну схеми лікування. Це попередить накопичення мутацій резистентності ВІЛ та підвищить ймовірність успіху лікування при призначенні таких схем АРВ-терапії [5, 6].

У незначної кількості пацієнтів (4,51±1,80%) повторне встановлення рівня ВН ВІЛ свідчило

про вірусологічну невдачу АРВ-терапії. В цьому випадку, перш за все, рекомендується оцінити так звану “прихильність” пацієнта до лікування (дотримання пацієнтом режиму прийому препаратів), провести моніторинг терапевтичних доз антиретровірусних препаратів (визначити концентрацію лікувальної речовини або її метаболітів у плазмі крові, якщо цей метод є доступним), провести дослідження щодо наявності мутацій резистентності ВІЛ до АРВ-препаратів [4–6]. Для встановлення причин вірусологічної неефективності АРВ-терапії зразки плазми крові пацієнтів з рівнем ВН ВІЛ більше 1000 РНК-копій/мл були підготовлені нами для подальшого молекулярно-генетичного аналізу методом секвенування геному ВІЛ.

При обстеженні пацієнтів, які знаходились на АРВ-терапії протягом 12 місяців, у переважної більшості осіб (78,47±1,87%) рівень ВН ВІЛ був нижче 40 РНК-копій/мл, що свідчило про ефективність призначених схем АРВ-терапії (табл. 3).

У 79 осіб (24,68±1,86%) через 12 місяців від початку лікування показники ВН ВІЛ коливались від 40 до 1000 РНК-копій/мл. Зразки крові вказаних пацієнтів були відібрані для повторного обстеження через 4 тижні після попереднього тестування.

У 25 (5,18±1,01%) пацієнтів виявлено вірусологічну неефективність застосованих схем АРВ-терапії, про що вказував рівень вмісту РНК ВІЛ більше 1000 РНК-копій/мл у зразках плазми крові ВІЛ-інфікованих пацієнтів через 12 місяців від початку терапії.

Показники рівня вірусного навантаження ВІЛ у ВІЛ-інфікованих пацієнтів дослідної групи через 12 місяців після початку антиретровірусної терапії

Центр СНІДу	Рівень вірусного навантаження ВІЛ, РНК-копій/мл				
		<40	від 40 до 1000	>1000	Всього
Кримський республіканський	абс.	63	8	8	79
	M±m, %	79,75±4,52	10,13±3,39	10,13±3,39	
Дніпропетровський обласний	абс.	53	6	0	59
	M±m, %	89,83±3,93	10,17±3,93		
Донецький обласний	абс.	77	19	0	96
	M±m, %	80,21±4,07	19,79±4,07		
Миколаївський обласний	абс.	63	9	5	77
	M±m, %	81,82±4,40	11,69±3,66	6,49±2,81	
Одеський обласний	абс.	63	28	5	96
	M±m, %	65,63±4,85	29,17±4,64	5,21±2,27	
Київський міський	абс.	60	9	7	76
	M±m, %	78,95±4,68	11,84±3,71	9,21±3,32	
Загалом	абс.	379	79	25	483
	M±m, %	78,47±1,87	16,36±1,68	5,18±1,01	

ВИСНОВКИ

Виявлено вірусологічну неефективність АРВ-терапії у 5,75% пацієнтів, які отримували АРВ-препарати впродовж 6 місяців та у 5,18% пацієнтів, які знаходились на лікуванні протягом 12 міс.

Залежності частоти вірусологічної неефективності АРВ-терапії від тривалості лікування не виявлено.

Встановлено незначну частоту вірусологічної невдачі АРВ-терапії (4,51±1,80% випадків) при повторному обстеженні пацієнтів з рівнем ВН ВІЛ від 40 до 1000 РНК-копій/мл.

ЛІТЕРАТУРА

1. Бартлет Дж., Галант Дж. *Клинические аспекты ВИЧ-инфекции: Пер. с англ.* — М., 2007. — 557 с.
2. Екимов А.Н., Шипулин Г.А., Бочкарев Е.Г., Рюмин Д.В. *Полимеразная цепная реакция в реальном времени (Real Time PCR) // www.interlabservice.ru/catalog/faq/?id= 3422.*
3. *Клінічний протокол антиретровірусної терапії ВІЛ-інфекції у дорослих та підлітків, затверджений Наказом МОЗ України від 12.07.2010 р № 551.*
4. Clavel F. Hance A. *HIV Drug Resistance // NEJM.* — 2004. — P. 1023–1035.
5. Grossberg R., Zhang Y., Gross R. *A time-to-prescription-refill measure of antiretroviral adherence predicted changes in viral load in HIV // J. Clin. Epidemiol.* — 2004 — Vol. 57. — P. 1107–1110.
6. Swanson P., Huang S., Holzmayer V. et al. *Performance of the automated Abbott Real Time™ HIV-1 assay on genetically diverse panel of specimens from Brazil // J. of Virol. Methods.* — 2006. — Vol. 134. — P. 237–243.
7. UNAIDS: *AIDS Epidemic Update, December 2009.*

8. UNAIDS: *AIDS Epidemic Update, December 2006.*

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЧАСТОТЫ ВИРУСОЛОГИЧЕСКОЙ НЕЭФФЕКТИВНОСТИ АНТИРЕТРОВИРУСНОЙ ТЕРАПИИ ВИЧ-ИНФИЦИРОВАННЫХ ПАЦИЕНТОВ С РАЗНОЙ ЕЁ ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТЬЮ

М.Г. Ляльчук, С.И. Доан, Н.А. Бабий, А.М. Шербинская

Изучена вирусологическая эффективность антиретровирусной терапии (АРВ-терапии) ВИЧ-инфицированных пациентов с разной продолжительностью лечения. У 5,75% пациентов, принимающих терапию не менее 6 месяцев и у 5,18% пациентов, находящихся на АРВ-терапии в течение 12 месяцев, выявлен высокий уровень вирусной загрузки ВИЧ (выше 1000 РНК-копий/мл), что свидетельствует о вирусологической неэффективности АРВ-терапии и может быть следствием формирования устойчивости вируса к АРВ-препаратам.

DEFINITION OF FREQUENCY OF A VIROLOGIC UNEFFECTIVENESS OF ANTIRETROVIRAL THERAPY OF HIV-INFECTED PATIENTS WITH ITS DIFFERENT TERMS

M.G. Liulchuk, S.I. Doan, N.O. Babiy, A.M. Shcherbinska

Virology efficiency of antiretroviral therapy (ART) of HIV-infected patients with different terms of treatment is studied. At 5,75% of the patients accepting therapy not less of 6 months and at 5,18% of patients, being on ART within 12 months, it is revealed high level of viral load of a HIV (above 1000 RNA-copies/ml) that testifies about virologic inefficiency of ART and can be a consequence of formation of resistance of HIV to ARV-drugs.