

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2014

УДК 615.281.8.03:616.98:578.828.6]-092:612.017.1.064].015.8

Зайцева Н.Н., Иванова Н.И., Парфенова О.В., Носов Н.Н., Пекшева О.Ю., Альтава Е.Е.

## ПРЕАНАЛИТИЧЕСКИЙ ЭТАП В ИССЛЕДОВАНИЯХ ПО НАДЗОРУ ЗА РЕЗИСТЕНТНЫМИ ШТАММАМИ ВИЧ К АНТИРЕТРОВИРУСНЫМ ПРЕПАРАТАМ В ПРИВОЛЖСКОМ ФЕДЕРАЛЬНОМ ОКРУГЕ

ФБУН Нижегородский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. акад. И.Н. Блохиной Роспотребнадзора, 603950, Нижний Новгород, Россия

*Представлен анализ мероприятий по организации преаналитического этапа мониторинга резистентности ВИЧ к антиретровирусным препаратам на административных территориях Приволжского федерального округа (ПФО). Проанализированы медицинские карты амбулаторных больных, получающих антиретровирусную терапию; направления на определение лекарственной устойчивости ВИЧ, присланные из территориальных центров по профилактике и борьбе со СПИДом и инфекционными заболеваниями ПФО; результаты тестирования специалистов службы профилактики ВИЧ/СПИД ПФО с помощью анкет «Особенности преаналитического этапа при выполнении молекулярно-генетических и иммунологических исследований», разработанных в Приволжском окружном центре по профилактике и борьбе со СПИДом; образцы биопроб, полученные при выездах в регионы округа. Выявлены нарушения в ходе выполнения преаналитического этапа, которые в дальнейшем обуславливают снижение информативности исследований или приводят к тому, что выполнение теста на лекарственную устойчивость ВИЧ становится нецелесообразным и даже невозможным. Даны рекомендации по основным направлениям работы для совершенствования преаналитического этапа исследований на резистентность ВИЧ к антиретровирусным препаратам.*

**Ключевые слова:** ВИЧ; резистентность; преаналитический этап; антиретровирусные препараты; Приволжский федеральный округ.

*N.N. Zaitseva, N.I. Ivanova, O.V. Parfenova, N.N. Nosov, O.Yu. Peksheva, E.E. Altova*

### THE PRE-ANALYTIC STAGE IN STUDIES OF SURVEILLANCE OF HIV STRAINS RESISTANT TO ANTI-RETROVIRUS PREPARATIONS IN THE PRIVOLZHSKIY FEDERAL OKRUG

The academician I.N. Blokhina Nizhny Novgorod research institute of epidemiology and microbiology of Rospotrebnadzor of Russia, 603950 Nizhny Novgorod, Russia

*The article presents analysis of activities concerning organization of pre-analytical stage of monitoring of HIV resistance to anti-retrovirus preparations on territories of the Privolzhskiy Federal Okrug. The medical records of patients receiving anti-retrovirus therapy and appointment cards to detect drug resistance of HIV from territorial centers of prevention and control of AIDS and infectious diseases are analyzed. The results of testing of specialists of service of prevention of AIDS/HIV with questionnaire "Characteristics of pre-analytical stage under implementation of molecular genetic and immunologic analyses" developed in the Privolzhskiy okrug center of prevention and control of AIDS and samples of bio-tests obtained during coming-outs in regions of okrug were included into analysis too. The failures in implementation of pre-analytical stage were established. Hence, the subsequent decreasing of informativeness of analyses or inexpediency or even impossibility of application of testing of AIDS drug resistance. The recommendations are proposed concerning main directions of work to enhance pre-analytical stage of analysis of AIDS resistance to anti-retrovirus preparations.*

**Key words:** AIDS; resistance; pre-analytical stage; anti-retrovirus preparation; the Privolzhskiy Federal Okrug.

В числе основных задач, стоящих перед системой российского здравоохранения, можно выделить повышение доступности и качества клинико-диагностической помощи, связанной с внедрением высокотехнологичных методов диагностики. Мощное развитие и укрепление лабораторной базы службы профилактики ВИЧ-инфекции/СПИД и увеличение спектра исследований, проводимых в рамках оказания стандарта медицинской помощи ВИЧ-инфицированным, расширило возможности для изучения генетического разнообразия вируса иммунодефицита человека, позволяя контролировать эффективность проводимого лечения и решать эпидемиологические задачи по надзору за ВИЧ-инфекцией [1–3].

Резистентность ВИЧ – одна из основных проблем антиретровирусной терапии (АРВТ), широко применяемой в последние годы для лечения ВИЧ-инфицированных. В Приволж-

ском федеральном округе (ПФО) на 01.01.13 АРВТ получали 26,9% ВИЧ-позитивных от общего числа зарегистрированных и 94,6% от числа нуждающихся. По разным причинам терапию прерывали 34,2% пациентов, что, несомненно, является пусковым моментом в развитии резистентности ВИЧ к антиретровирусным препаратам (АРВ-препаратам) [4].

В Нижегородский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. акад. И.Н. Блохиной Роспотребнадзора в Приволжский окружной центр по профилактике и борьбе со СПИДом (далее Центр) за период 2008–2013 гг. из 12 регионов ПФО прислано 645 образцов биоматериала для проведения теста на лекарственную устойчивость (ЛУ) ВИЧ, из них нуклеотидную последовательность определяли у 546 (84,6%). Более 15% присланных образцов не подлежали заявленным в направлениях исследованиям из-за нарушений требований преаналитического этапа. Специалистами Центра проделана комплексная работа, включающая оценку уровня теоретических знаний и практических навыков специалистов службы профилактики ВИЧ-инфекции/СПИД ПФО при выполнении мероприятий по надзору за резистентностью ВИЧ к АРВ-препаратам в части организации преаналитического этапа данного вида исследований.

Для корреспонденции:

*Зайцева Наталья Николаевна*, канд. мед. наук, зав. отделением эпиднадзора за ВИЧ-инфекцией Приволжского окружного центра по профилактике и борьбе со СПИД  
Адрес: 603950, Нижний Новгород, ул. Малая Ямская, 71  
E-mail: prokaid@mail.ru

*Цель исследования.* Выявить нарушения в ходе выполнения преаналитического этапа, которые негативно влияют на информативность и целесообразность исследований. Дать рекомендации по совершенствованию преаналитического этапа при проведении теста на ЛУ ВИЧ.

*Материалы и методы.* Материалы для исследования и анализа предоставлены территориальными центрами по профилактике и борьбе со СПИДом и инфекционными заболеваниями (ПБ СПИДиИЗ) ПФО. Авторами проанализированы результаты тестирования специалистов службы профилактики ВИЧ/СПИД ПФО с помощью анкет «Особенности преаналитического этапа при выполнении молекулярно-генетических и иммунологических исследований», разработанных в Центре; 437 направлений на определение ЛУ ВИЧ, присланных из территориальных центров ПБ СПИДиИЗ округа; 186 медицинских карт амбулаторных больных, получающих АРВТ; 645 образцов биопроб, полученных из регионов ПФО. Идентификация мутаций, связанных с резистентностью ВИЧ к АРВ-препаратам, осуществлялась с использованием тест-систем ViroSeq™ HIV-1 Genotyping System (Abbott Laboratories, США) и «АмплиСенс® HIV-Resist-Seq» (ЦННИЭ, Россия) в соответствии с инструкциями производителей по их применению.

*Результаты и обсуждение.* Для анализа уровня теоретических знаний по вопросам организации преаналитического этапа диагностических исследований ВИЧ-инфекции проведено тестирование сотрудников территориальных центров ПБ СПИДиИЗ ПФО. Специалистами Центра разработана анкета «Особенности преаналитического этапа при выполнении молекулярно-генетических и иммунологических исследований». Предложенные в анкете 29 вопросов и вариантов ответов к ним касались таких аспектов преаналитического этапа, как работа с пациентами, показания для назначения теста на резистентность, особенности забора, хранения, транспортировки материала для проведения исследования. Анализ выбранных вариантов ответов показал, что в среднем по округу в 60,5% случаев отмечены все правильные варианты предложенных ответов по каждому вопросу, неполные (не все варианты правильных ответов) получены в 26,5% случаев. Территории округа продемонстрировали различную степень подготовки специалистов по тематике анкеты: так, количество правильных ответов на отдельных территориях достигало 82,8%, а на других составляло лишь 41,4%. Отсутствие верных вариантов ответов на некоторых территориях достигало 27,6% и в среднем по округу составило 13,0%. Наиболее часто вызвали затруднения вопросы, связанные с показаниями к назначению теста на ЛУ ВИЧ, забором и хранением биоматериала, подготовкой материала для исследования. До сведения руководителей территориальных центров ПБ СПИДиИЗ ПФО доведены конкретные направления дальнейшей работы по устранению недочетов.

Анализ направлений на определение ЛУ ВИЧ, присланных из территориальных центров ПБ СПИДиИЗ округа, позволил выявить несколько групп нарушений в организации преаналитического этапа проведения теста на резистентность ВИЧ к АРВ-препаратам.

1. Нарушения, связанные с выполнением правил обследования и назначения теста на резистентность (назначение теста при низкой вирусной нагрузке – ВН); после перерыва в лечении более 2 нед или сразу после смены АРВТ; определение уровня РНК ВИЧ ранее чем за 14 дней до момента взятия крови на исследование; назначение теста без определения показателей ВН; необоснованность назначения исследования).

2. Нарушения в заполнении/оформлении документации.

2.1. Некорректное заполнение направлений: отсутствие даты забора крови, отметок о хранении и транспортировке образцов, показаний к тестированию; не указаны длительность приема схемы АРВТ, степень приверженности АРВТ, причины отмены предыдущих схем лечения.

2.2. Формальное и небрежное заполнение направлений (показанием к направлению для исследования у пациента, прини-

мающего АРВТ, является определение первичной резистентности; наличие исправлений; отсутствуют показатели ВН и количества СД4-лимфоцитов к проводимой схеме терапии).

3. Нарушения при работе с материалом (ошибки в выборе и подготовке материала (отправка цельной крови вместо плазмы); недостаточный объем материала; нарушение сроков транспортировки (поздняя доставка).

Плановые лабораторные исследования и их кратность в период диспансерного наблюдения за ВИЧ-позитивными пациентами как до назначения, так и в период проведения АРВТ (в том числе и проведение теста на резистентность ВИЧ к АРВ-препаратам) должны соответствовать утвержденным стандартам оказания медицинской помощи [1, 2, 5, 6]. Для контроля за соблюдением этих требований и оценки организации преаналитического этапа при проведении эпидемиологического мониторинга за ЛУ ВИЧ сделаны выезды в регионы ПФО. Проведенный анализ позволил выявить следующие нарушения:

- снижение кратности числа исследований на ВН;
- недостаточная настороженность врачей в отношении формирования резистентности ВИЧ и отсутствие назначения теста на резистентность;
- несоблюдение (увеличение) сроков доставки биоматериала для проведения теста на ЛУ ВИЧ;
- нарушение алгоритма тестирования на ЛУ ВИЧ пациентов, прервавших АРВТ.

Выявленные недостатки, как при оценке теоретических знаний специалистов центров ПБ СПИДиИЗ, так и при анализе их практической деятельности оказывают существенное влияние на конечный результат, делая тест нецелесообразным или полученные результаты неинформативными.

Медицинские работники должны обладать уровнем квалификации, подразумевающей навыки осознанного выполнения всех требований, необходимых для дальнейшего успешного проведения исследования и получения достоверного результата [7].

*Заключение.* Основными направлениями работы по улучшению проведения мониторинга за резистентностью ВИЧ к АРВ-препаратам и прежде всего совершенствованию преаналитического этапа следует считать:

- включение в учебные планы подготовки и переподготовки специалистов, задействованных в назначении и выполнении молекулярно-генетических исследований, разделов, касающихся квалифицированного осуществления подготовительного этапа данных методов, а также их проведения и интерпретации;
- разработку и внедрение в образовательный процесс на базе высших и средних медицинских учебных заведений новых программ по работе с передовыми медицинскими технологиями, оборудованием и материалами;
- достаточное обеспечение финансированием всего объема исследований по лабораторному сопровождению стандартов оказания медицинской помощи ВИЧ-позитивным в центрах ПБ СПИДиИЗ;
- соблюдение сроков хранения образцов, доставки биоматериала для проведения теста на резистентность;
- выполнение требований сопроводительных документов и инструкций к диагностикам и тест-системам с целью избежания ошибок при проведении преаналитического этапа лабораторных исследований;
- разработку федеральной системы «Экспресс-биодоставка» (заклучение централизованного договора Минздрава РФ/Роспотребнадзора с транспортными (экспресс) компаниями, имеющими соответствующую лицензию) с учетом возможностей авиационного транспорта и других видов скоростного сообщения для доставки биоматериала с целью проведения исследований на резистентность ВИЧ к АРВ-препаратам с соответствующим государственным финансированием и внедрение ее в практику работы;
- включение в программу Федеральной системы внешней оценки качества разделов по контролю молекулярно-

генетических исследований по мониторингу за резистентностью ВИЧ к АРВ-препаратам.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Методическое письмо от 04.08.2006 г. № 4174-РХ «Проведение лабораторного обследования на ВИЧ-инфекцию (в том числе исследование иммунитета и вирусной нагрузки при ВИЧ-инфекции)». М.; 2006.
2. Методические рекомендации от 06.08.2007 г. № 5956-РХ «О проведении надзора за циркуляцией генетических вариантов вируса иммунодефицита человека, включая циркуляцию штаммов, резистентных к антиретровирусным препаратам». М.; 2007.
3. Санитарно-эпидемиологические правила СП 3.1.5.2826-10 «Профилактика ВИЧ-инфекции». М.; 2011.
4. Парфенова О.В., Пекишева О.Ю., Зайцева Н.Н. Мутации, определяющие резистентность ВИЧ к антиретровирусной терапии в ПФО в 2008–2012 гг. Медицинский альманах. 2013; 2 (26): 79–82.
5. Приказ Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации от 09.07.2007 г. № 474 «Об утверждении стандарта медицинской помощи больным болезнью, вызванной ВИЧ». М.; 2007.
6. Приказ Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации от 09.07.07 г. № 475 «Об утверждении стандарта медицинской помощи больным болезнью, вызванной ВИЧ» (при оказании специализированной помощи). М.; 2007.
7. Носов Н.Н., Парфенова О.В., Иванова Н.И. Об организационных проблемах внедрения молекулярной диагностики в службе профилактики СПИД. В кн.: Сборник трудов VII Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Молекулярная диагностика – 2010». М.; 2010; I: 75–6.

## REFERENCES

1. Methodological letter from 04.08.2006 Number 4174-PX "Conducting laboratory testing for HIV (including the study of immunity and viral load in HIV infection)." Moscow; 2006. (in Russian)
2. Guidelines of 06.08.2007 Number 5956-RH "On supervision for circulation of genetic variants of human immunodeficiency virus, including the circulation of strains resistant to antiretroviral drugs." Moscow; 2007. (in Russian)
3. Sanitary Regulations SP 3.1.5.2826-10 "HIV infection". Moscow; 2011. (in Russian)
4. Parfenova O.V., Peksheva O.Yu., Zaytseva N.N. Mutations defining HIV resistance to antiretroviral therapy in Volga Federal District from 2008 to 2012. *Meditinskiy al'manakh*. 2013; 2 (26): 79–82. (in Russian)
5. Order of the Ministry of Health and Social Development of the Russian Federation 09.07.2007 Number 474 "On approval of the standard of medical care to patients with a disease caused by HIV." Moscow; 2007. (in Russian)
6. Order of the Ministry of Health and Social Development of the Russian Federation from 09.07.2007 Number 475 "On approval of the standard of medical care to patients with a disease caused by HIV" (for specialized care). Moscow; 2007. (in Russian)
7. Nosov N.N., Parfenova O.V., Ivanova N.I. On organizational problems introduction of molecular diagnostics in the service of AIDS prevention. In: "Molecular Diagnostics – 2010": Proc. VII Russian scientific and practical conference with international participation. Moscow; 2010; 1: 75–6. (in Russian)

Поступила 21.02.14

Received 21.02.14

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2014

УДК 579.843.1.083.2

Рыковская О.А., Чемисова О.С., Смоликова Л.М., Монахова Е.В., Подойницына О.А., Чайка, С.О., Сагакянц М.М.

## ДИФФЕРЕНЦИАЦИЯ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ *VIBRIO PARAHAEMOLYTICUS* И *VIBRIO ALGINOLYTICUS*

ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора, 344002, Ростов-на-Дону, Россия

*Vibrio parahaemolyticus* и *Vibrio alginolyticus* – филогенетически близкородственные виды. У них общие экологические ниши, одинаковые культуральные свойства и сходные биохимические признаки. Фенотипическая изменчивость и таксономическое сходство штаммов этих видов затрудняют дифференциацию по биохимическим признакам *V. parahaemolyticus* от *V. alginolyticus*. Для получения достоверных результатов диагностики использования дополнительных методов дифференциации и идентификации этих двух видов бактерий. Целью настоящей работы явилась сравнительная оценка эффективности биохимического тестирования, ПЦР-анализа и метода масс-спектрометрии для дифференциации видов *V. alginolyticus* и *V. parahaemolyticus* на модели коллекции, включая атипичные штаммы этих видов. Для подтверждения видовой принадлежности штаммов *V. alginolyticus* и *V. parahaemolyticus* необходимо использовать в дополнение к биохимическим методам идентификации ПЦР-анализ с видоспецифичными праймерами генов металлопротеазы (коллагеназы) *pprC* и *varC*. Метод MALDI-TOF масс-спектрометрии может служить дополнительным эффективным методом идентификации и межвидовой дифференциации видов *V. alginolyticus* и *V. parahaemolyticus*, выделенных из разных источников.

Ключевые слова: *Vibrio parahaemolyticus*; *Vibrio alginolyticus*; видоспецифичные гены; MALDI-TOF масс-спектрометрия; ПЦР-анализ; биохимические тесты.

O.A. Rykovskaya, O.S. Chemisova, L.M. Smolikova, E.V. Monakhova, O.A. Podoinitsina, S.O. Chaika, M.M. Sagakyantz

THE DIFFERENTIATION OF SPECIMENS OF *VIBRIO PARAHAEMOLYTICUS* AND *VIBRIO ALGINOLYTICUS*

The Rostov-on-Don anti-plague institute of Rosпотребнадzor of Russia, 344002 Rostov-on-Don, Russia

Для корреспонденции:

Рыковская Оксана Алексеевна, науч. сотр.

Адрес: 344002, Ростов-на-Дону, ул. М. Горького, 117/40

E-mail: plague@aaanet.ru