

2. Лабораторная диагностика

Перечни лабораторных исследований, рекомендуемые для оценки состояния пациента при первичном обращении и при последующих осмотрах, приведены в таблице 2.16, см. стр. 51.

Типы и подтипы ВИЧ

ВИЧ-1

Диагноз ВИЧ-инфекции устанавливается при обнаружении антител к вирусу, вирусных антигенов, вирусной РНК или ДНК или при выделении культуры вируса (*Lancet* 1996; 348:176). Стандартным диагностическим тестом служит анализ крови на антитела к ВИЧ. Выделяют 2 типа ВИЧ: ВИЧ-1 и ВИЧ-2, аминокислотные последовательности которых гомологичны на 40–60%. Почти все случаи ВИЧ-инфекции вызваны ВИЧ-1, за исключением незначительного количества случаев, вызванных штаммами ВИЧ-2, происходящими из Западной Африки. ВИЧ-1 делится на подтипы, обозначаемые буквами от А до К (А, В, С, D, F, G, H, J, K, которые объединяются в группу М, содержащую также 15 циркулирующих рекомбинантных форм [CRF]) и подтип (группу) О (*AIDS* 2000; 14:S31). Циркулирующие рекомбинантные формы ВИЧ включают CRF01_AE (геном представляет собой мозаику из нуклеотидных последовательностей подтипов А и Е) и CRF02_AG. У вирусов подтипа О и вирусов группы М аминокислотные последовательности гомологичны на 55–70%. Большинство случаев ВИЧ-инфекции приходится на долю шести разновидностей ВИЧ: четырех подтипов (А, В, С, D) и двух циркулирующих рекомбинантных форм — CRF01_AE и CRF02_AG (см. таблицу 2.1). В 1998 году была открыта еще одна группа вирусов, обозначенная буквой «N» («new», «новые») (*Nat Med* 1998; 4:1032; *Science* 2000; 287:607). В настоящее время высказываются предположения, что вирусы групп О и N произошли в результате дивергентной эволюции или обмена генетическим материалом между разными видами вирусов. Вирусы группы О некоторое время были распространены в Камеруне, а ВИЧ-2 преобладал в Западной Африке в середине 90-х годов, однако оба эти вируса были в значительной степени вытеснены ВИЧ-1. Более 98% случаев ВИЧ-1-инфекции в США вызваны вирусом подтипа В; при обнаружении у пациента другого подтипа вируса в большинстве случаев выясняется, что заражение произошло за пределами США (*JID* 2000; 181:470); относительно редкие подтипы О и N продолжают обнаруживаться преимущественно в Западной Африке. По результатам исследования, проведенного в 2005 году в Нью-Йорке, среди 196 ВИЧ-инфицированных иммигрантов у 111 человек (55%) был ВИЧ подтипа В, у 54 человек (27%) был ВИЧ подтипа А, и у 8 человек (4%) был ВИЧ подтипа С (*JAIDS* 2006; 41:399).

Таблица 2.1. Географическое распространение различных подтипов ВИЧ (*Lancet* 2007; 368:489)

Регионы	Общее кол-во инфицированных	Подтипы ВИЧ
Северная Америка	1 200 000	B
Карибский бассейн	300 000	B
Латинская Америка	1 800 000	B, BF
Западная Европа	720 000	B
Северная Африка, Ближний Восток	510 000	B, C
Африка южнее Сахары	25 800 000	A, C, D, F, G, H, J, K, циркулирующие рекомбинантные формы
Восточная Европа, Центральная Азия	1 600 000	A, B
Восточная Азия	870 000	B, C, BC, CRF01
Юго-Восточная Азия	7 400 000	B, AE

ВИЧ-2 (см. www.cdc.gov/hiv/resources/Factsheets/hiv2.htm)

ВИЧ-2 — еще один ретровирус человека, вызывающий иммунодефицит вследствие снижения количества лимфоцитов CD4. Он распространен преимущественно в Западной Африке.

ОСОБЕННОСТИ ТЕЧЕНИЯ ВИЧ-2-ИНФЕКЦИИ. По сравнению с ВИЧ-1, ВИЧ-2 менее контагиозен и для ВИЧ-2-инфекции характерна меньшая вирусная нагрузка и, в связи с этим, более медленный темп снижения количества лимфоцитов CD4 и более медленное клиническое прогрессирование заболевания (*Lancet* 1994; 344:1380; *AIDS* 1994; 8[suppl 1]:585; *JID* 1999; 180:1116; *JAIDS* 2000; 24:257; *Arch Intern Med* 2000; 160:3286; *AIDS* 2000; 14:441; *JID* 2002; 185:905; *AIDS* 2008; 22:211). Однако при сравнении показателей смертности в группах инфицированных ВИЧ-1 и ВИЧ-2 с одинаковой вирусной нагрузкой было обнаружено, что эти показатели практически не различаются (*JAIDS* 2005; 38:335). У ВИЧ-2 и ВИЧ-1 аминокислотные последовательности менее гомологичны, чем у разных подтипов ВИЧ-1 между собой (*Nature* 1987; 328:543), и в 20–30% случаев (в зависимости от применяемой методики иммуноферментного анализа) у больных ВИЧ-2-инфекцией получают отрицательный результат серологических анализов. ВИЧ-2 способны обнаружить четыре одобренные FDA тест-системы для быстрой диагностики ВИЧ (экспресс-тесты) (см. ниже). Методики вестерн-блота для диагностики ВИЧ-2-инфекции не стандартизованы и не утверждены FDA (*Ann Intern Med* 1993; 118:211; *JAMA* 1992; 267:2775).

Оказание медицинской помощи лицам, инфицированным ВИЧ-2, сопряжено с определенными трудностями:

- 1) Многие пациенты инфицированы и ВИЧ-1, и ВИЧ-2 (*AIDS* 2002; 16:1775).
- 2) Для удвоения количества вирусных частиц ВИЧ-2 требуется в 6 раз больше времени, чем ВИЧ-1, поэтому для ВИЧ-2-инфекции характерна меньшая вирусная нагрузка, меньшая контагиозность (т. е. вероятность передачи вируса) и более длительный период бессимптомного течения (*JAMA* 1993; 270:2083).
- 3) ВИЧ-2 нечувствителен к невирапину и эфавирензу (*J Clin Microbiol* 2000; 38:1370; *NEJM* 2000; 342:1758; *JAIDS* 2000; 25:11; *AIDS* 2004; 18:495; *Antivir Ther* 2004; 9:57; *J Clin Microbiol* 2005; 43:484). ВИЧ-2 чувствителен к ИП (*J Mol Biol* 2008; 384:178), однако очень быстро приобретает генетическую резистентность к препаратам этого класса (*Antimicrob Ag Chemother* 2007; 51:604). Результаты анализа 29 случаев ВИЧ-2-инфекции выявили хороший иммунологический ответ (прирост

* Эндемичные территории Западной Африки – Бенин, Буркина-Фасо, Гамбия, Гана, Гвинея, Гвинея-Бисау, Кабо-Верде, Кот-д'Ивуар, Либерия, Мали, Мавритания, Нигер, Нигерия, Сан-Томе, Сенегал, Сьерра-Леоне, Того; другие африканские страны — Ангола и Мозамбик (*MMWR* 1992; 41[RR-12]:1).

лимфоцитов CD4) на фоне приема схем ВААПТ с LPV/r (*AIDS* 2009; 23:1171). Активностью против ВИЧ-2 обладают ралтегравир и элвитегравир (*J Antimicrob Chemother* 2008; 62:914; *AIDS* 2008; 22:1091).

- 4) Подтвердить диагноз ВИЧ-2-инфекции лабораторными методами бывает довольно трудно (см. ниже).
- 5) В продаже отсутствуют диагностические наборы для измерения вирусной нагрузки ВИЧ-2 и исследования ВИЧ-2 на резистентность (*Arch Intern Med* 2000; 160:3286); такие исследования выполняются только в отдельных специализированных лабораториях (*J Virol Methods* 2000; 88:81; *CID* 2004; 38:1771; *JAIDS* 2000; 24:257). В одной публикации был описан случай измерения вирусной нагрузки ВИЧ-2 методом ОТ-ПЦР (*AIDS Res Ther* 2008; 5:18).

СЕРОЛОГИЧЕСКОЕ ТЕСТИРОВАНИЕ НА ВИЧ-2. Метод ИФА на ВИЧ-2 был лицензирован FDA в 1990 году, а в 1992 году он был включен в перечень обязательных скрининговых анализов донорской крови. Результаты вестерн-блота, по которым можно заподозрить ВИЧ-2-инфекцию: неопределенное сочетание полосок, свидетельствующее о наличии антител к gag-белкам (p66, p51, p32), и отсутствие антител к env-белкам (gp160, gp120, gp41). Из одобренных FDA экспресс-тестов *OraQuick*, *Multispot*, *VITROS* и *Clearview* выявляют как ВИЧ-1, так и ВИЧ-2. *Reveal G2* и *Uni-Gold Recombigen* утверждены только для обнаружения ВИЧ-1. Более подробную информацию см. на стр. 15. Недавно был выявлен новый штамм ВИЧ-2, который не обнаруживается с помощью ПЦР, разработанной для эндемичного ВИЧ-2 (*Retrovirology* 2008; 5:103).

РАСПРОСТРАНЕННОСТЬ. В США за период с 1987 года по март 2007 года ВИЧ-2-инфекция была выявлена у 79 человек, из которых 52 родились в Западной Африке, а большинство остальных или бывали там, или вступали в половую связь с представителем этого региона, или же о них не было собрано достаточно информации (*MMWR* 1995; 44:603; *JAMA* 1992; 267:2775; данные веб-сайта www.cdc.gov/hiv/resources/factsheets/hiv2.htm на 1 июля 2008 года). CDC рекомендует, чтобы серологическое тестирование на ВИЧ-2 проводилось 1) уроженцам эндемичных территорий (см. сноску на стр. 7); 2) половым партнерам уроженцев эндемичных территорий и лицам, пользовавшимся вместе с ними общими приспособлениями для введения наркотиков; 3) половым партнерам ВИЧ-2-инфицированных и лицам, пользовавшимся вместе с ними общими приспособлениями для введения наркотиков; 4) лицам, которым выполнялись переливания крови или нестерильные инъекции во время пребывания на эндемичных территориях; 5) детям, рожденным женщинами с высоким риском инфицирования ВИЧ-2. У пациентов с недостаточным иммунологическим ответом (приростом лимфоцитов CD4) несмотря на хорошую супрессию репликации вируса следует заподозрить сочетанную инфекцию ВИЧ-2.

Серологическое тестирование на ВИЧ

ПОКАЗАНИЯ. В США на протяжении большей части периода эпидемии ВИЧ-инфекции тестирование на ВИЧ рекомендовалось проводить лицам из групп риска по ВИЧ-инфекции. Поэтому тестирование на ВИЧ в основном проходили: 1) взрослые из групп риска с предполагаемой серопревалентностью (процентной долей лиц с антителами к ВИЧ) >1% (МСМ, ПИН, работники коммерческого секса, больные ЗППП, туберкулезные больные, лица, вступавшие в половые контакты с ВИЧ-инфицированными или постоянные половые партнеры ВИЧ-инфицированных); 2) беременные; 3) жертвы сексуального насилия; 4) лица, у которых произошел опасный контакт с ВИЧ на рабочем месте; 5) лица, пожелавшие пройти обследование на ВИЧ (*NEJM* 2006; 355:647; *CID* 2004; 39:609). Однако в 2006 году CDC рекомендовал пересмотреть национальную политику в отношении тестирования на ВИЧ и проводить его всем обращающимся за медицинской помощью за исключением тех, кто от него отказывается (стратегия "opt-out") (*MMWR* 2006; 55:RR 14). В пользу такой рекомендации были приведены следующие аргументы: 1) кампания по профилактике ВИЧ потерпела неудачу как в США, так и в большинстве стран земного шара; по оценкам, около 250 000 человек (примерно 25% всех ВИЧ-инфицированных в США) не знают о том, что инфицированы. По прогнозам исследователей, выявление этих 25% ВИЧ-инфицированных приведет к существенному снижению частоты передачи ВИЧ (вплоть до 31%) вследствие изменений образа жизни, характерных для лиц, знающих о своем инфицировании ВИЧ (*AIDS* 2006; 20:144); 2) у лиц, поздно обра-

тившихся за медицинской помощью, ВААПТ менее эффективна (*MMWR* 2006; 55:1269). Ожидается, что применение стратегии “opt-out” устранил барьеры, возведенные вокруг тестирования на ВИЧ за 20 лет, в течение которых пропагандировалась концепция «исключительности ВИЧ-инфекции» и для выполнения тестирования на ВИЧ зачастую требовались подписанное информированное согласие и записи о прохождении дотестового и послетестового консультирования. Эти требования в некоторых штатах США и многих странах закреплены законодательно. Сторонники соблюдения этих требований указывают на опасность стигматизации (социального отчуждения) ВИЧ-инфицированных, дискриминации при предоставлении услуг медицинского страхования или отказе в страховом покрытии (*Am J Bioethics* 2006; 6:5; *Lancet* 2007; 369:539). Конкретные предложения CDC (*MMWR* 2006; 55RR14):

- Тестирование на ВИЧ должно войти в стандарт оказания медицинской помощи пациентам 13–64 лет и должно проводиться во всех медицинских учреждениях с большим потоком пациентов, таких как отделения неотложной помощи, клиники первичной медицинской помощи, приемные покои больниц, женские консультации и венерологические клиники. (Всем пациентам старше 65 лет проводить тестирование на ВИЧ нецелесообразно, поскольку в этой возрастной группе серопревалентность ниже 0,1% — пороговой величины для экономической эффективности (*NEJM* 2005; 352:570)).
- Согласие на получение медицинской помощи в этих учреждениях будет подразумевать и согласие на проведение тестирования на ВИЧ; пациент может отказаться от тестирования на ВИЧ так же, как он может отказаться от любого другого обследования или вмешательства.
- Пациентов следует информировать о том, что их проверят на ВИЧ, и дать возможность отказаться от тестирования или попросить предоставить больше информации. Решение о прохождении тестирования на ВИЧ не должно влиять на дальнейшее оказание медицинской помощи.
- Пациентов с положительным результатом тестирования на ВИЧ следует направлять в медицинские учреждения и службы, предоставляющие помощь по поводу ВИЧ-инфекции.
- Пациентов из групп высокого риска (перечисленных выше) следует проверять на ВИЧ ежегодно. Прочим пациентам повторное тестирование на ВИЧ рекомендуется проводить только при обнаружении нового фактора риска, например, после появления нового полового партнера.
- Результаты тестирования на ВИЧ должны выдаваться таким же образом, как результаты любых других исследований. Пациентам с положительными результатами скрининговых тестов следует выполнить тестирование методом вестерн-блота для подтверждения диагноза ВИЧ-инфекции и направить к специалисту по ВИЧ-инфекции.
- Необходимо подчеркнуть, что рекомендации CDC не умаляют важности консультирования по вопросам профилактики ВИЧ-инфекции, стигмы и т. д.; речь идет о том, чтобы эти проблемы решались наряду с другими важными медицинскими проблемами без применения стратегий, разработанных специально для борьбы с ВИЧ-инфекцией (см. *AIDS* 2007; 21:1617).

Стандартный протокол серологического тестирования

Стандартный протокол серологического тестирования на ВИЧ включает скрининговый иммуноферментный анализ (ИФА) или экспресс-тест на ВИЧ с подтверждением положительного результата с помощью вестерн-блота. Если проводится скрининг методом ИФА, то перед проведением вестерн-блота необходимо повторно получить положительный результат ИФА. Вестерн-блот позволяет обнаружить антитела к белкам ВИЧ-1, в том числе белкам сердцевины вируса (p17, p24, p55), гликопротеинам оболочки (gp41, gp120, gp160) и ферментам (p31, p51, p66). Положительный результат ИФА всегда следует подтверждать при помощи вестерн-блота, поскольку ИФА дает ложноположительный результат в 2% случаев. Результаты вестерн-блота интерпретируются следующим образом (*Am J Med* 2000; 109:568):

- **отрицательный:** отсутствие полос;
- **положительный:** полосы, указывающие на наличие антител к gp120/160 + либо к gp41, либо к p24;

- **неопределенный:** наличие любых полос, сочетание которых не удовлетворяет критериям положительного результата.

ТОЧНОСТЬ. У пациентов с установившейся инфекцией (>3 месяцев после инфицирования) чувствительность стандартного протокола серологического тестирования (ИФА и вестерн-блот или иммунофлюоресцентный анализ) составляет 99,5% (ДИ 98–99,9%), а специфичность — 99,994% (*NEJM* 2005; 352:570; *JAMA* 1991; 266:2861; *Am J Med* 2000; 109:568). При получении положительных результатов следует подтвердить диагноз ВИЧ-инфекции при помощи повторных серологических анализов в сочетании с клиническими или лабораторными методами.

ЛОЖНООТРИЦАТЕЛЬНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ. Ложноотрицательные результаты обычно получают в случае обследования в так называемый период «окна». Процент ложноотрицательных результатов варьирует от 0,3% в популяциях с высокой распространенностью (*JID* 1993; 168:327) до <0,001% в популяциях с низкой распространенностью ВИЧ-инфекции (*NEJM* 1991; 325:593). Возможные причины ложноотрицательных результатов:

- **Период «окна».** Промежуток времени от момента инфицирования до обнаружения антител к ВИЧ методом ИФА составляет в среднем от 10 до 14 дней (*CID* 1997; 25:101; *Am J Med* 2000; 109:568). У некоторых пациентов антитела к ВИЧ обнаруживаются лишь через 3–4 недели после заражения, но практически у всех ВИЧ-инфицированных сероконверсия происходит в течение 6 месяцев после заражения (*Am J Med* 2000; 109:568). Современные тест-системы обнаруживают не только антитела к ВИЧ, но и РНК ВИЧ, что позволяет в настоящее время выявлять ВИЧ-инфекцию и в этом периоде.
- **Серореверсия.** В редких случаях на поздних стадиях заболевания у пациентов происходит серореверсия (*JAMA* 1993; 269:2786; *Ann Intern Med* 1988; 108:785). Кроме того, серореверсия также наблюдалась у пациентов, у которых благодаря ВААП удалось добиться восстановления иммунной системы на длительный срок (более 5 лет) (*NEJM* 1999; 340:1683; *AIDS* 2006; 20:460), а также у пациентов, которые начинали получать ВААП на стадии острой ВИЧ-инфекции (*CID* 2006; 42:700) или на поздней стадии ВИЧ-инфекции (*J Med Virol* 2008; 80:1515; *Ann Intern Med* 2008; 149:71).
- **«Атипичная иммунная реакция»** служит причиной ложноположительных результатов серологического обследования в редких случаях; ее причины неясны (*AIDS* 1995; 9:95; *MMWR* 1996; 45:181; *CID* 1997; 25:98; *JID* 1997; 175:955; *AIDS* 2004; 18: 1071; *AIDS* 1999; 13:89; *CID* 2008; 46:785). Диагноз ВИЧ-инфекции устанавливается по результатам исследования вирусной нагрузки, однако при обнаружении низкой вирусной нагрузки следует помнить о возможности ложноположительного результата (*Ann Intern Med* 2001; 134:25).
- **Агаммаглобулинемия** (*NEJM* 2005; 353:1074). Диагноз ВИЧ-инфекции подтверждается методом определения вирусной нагрузки.
- **Инфекция штаммом группы N или O или ВИЧ-2.** Стандартные серологические анализы позволяют обнаружить подтипы группы M (подтипы A–N) ВИЧ-1; некоторые из них позволяют обнаружить ВИЧ-1 и ВИЧ-2. Скрининговый ИФА может не обнаружить антитела к вирусам подтипов O и N (*Lancet* 1994; 343:1393; *Lancet* 1994; 344:1333; *MMWR* 1996; 45:561; *J Clin Microbiol* 2006; 44:1856; *J Clin Microbiol* 2006; 44:662; *J Clin Micro* 2008; 6:2453; *CID* 2008; 46:1936). На март 2000 года в США было зарегистрировано только 2 человека с ВИЧ-инфекцией, вызванной вирусом подтипа O (*MMWR* 1996; 45:561; *Emerg Infect Dis* 1996; 2:209; *AIDS* 2002; 18:269). Ложноотрицательный результат ИФА может наблюдаться при инфекции ВИЧ подтипа N, другой редкой разновидностью ВИЧ-1, но в этом случае подтвердить диагноз ВИЧ-инфекции может помочь положительный результат вестерн-блота (*Nat Med* 1998; 4:1032). На март 2000 года в США не было выявлено ни одного случая инфекции ВИЧ подтипа N (*JID* 2000; 181:470). Стандартные ИФА-тест-системы дают ложноотрицательный результат в 20–30% случаев инфицирования ВИЧ-2. В таком случае необходимо использовать специальные тест-системы для диагностики ВИЧ-2. Сейчас ВИЧ-2 чаще всего обнаруживается у жителей Западной Африки, инфицированных ВИЧ-1 («двойная» инфекция) (*AIDS* 1999; 13:701). О том, в каких случаях можно заподозрить инфекцию ВИЧ-2,

рассказывалось выше (стр. 6–7). Экспресс-тест *Multispot* одобрен FDA для раздельной диагностики ВИЧ-1 и ВИЧ-2-инфекции.

▪ **Техническая или канцелярская ошибка.**

ЛОЖНОПОЛОЖИТЕЛЬНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ. Частота ложноположительных результатов стандартного протокола серологического тестирования на ВИЧ (ИФА с последующим вестерн-блотом) отмечалась в диапазоне от 0,0004% до 0,0007% (*JAMA* 1998; 280:1080; *Arch Intern Med* 2003; 163:1857; *Arch Intern Med* 2000; 160:2386). Частота 0,0004% была получена на основании сообщения Красного Креста о 20 случаях получения ложноположительных результатов исследования на ВИЧ при тестировании 5,02 млн образцов донорской крови, сданных с 1991 по 1995 год; 1 случай на 251 000 образцов (*JAMA* 1998; 280:1081). У 18 из этих 20 образцов крови (90%) на вестерн-блоте обнаруживались либо только *env*-полосы (антитела к оболочечным белкам), либо *env*-полосы в сочетании с еще одной полосой. Ложноположительный результат можно заподозрить, если у пациента отсутствуют факторы риска инфицирования ВИЧ, не определяется вирусная нагрузка и показатели количества лимфоцитов CD4 в пределах нормы (*Arch Intern Med* 2003; 163:1857). Если у пациента отсутствуют другие лабораторные признаки ВИЧ-инфекции, серологическое тестирование следует провести повторно. Возможные причины ложноположительных результатов:

- **Аутоантитела.** В литературе было опубликовано единственное сообщение о случае, когда ложноположительный результат серологического тестирования на ВИЧ был объяснен наличием аутоантител (*NEJM* 1993; 328:1281). Однако впоследствии диагноз ВИЧ-инфекции у этого пациента подтвердился выделением культуры вируса (*NEJM* 1994; 331:881).
- **Вакцины против ВИЧ.** Вакцинация против ВИЧ — самая распространенная причина ложноположительных результатов серологического тестирования на ВИЧ. При обследовании 266 здоровых волонтеров, принявших участие в испытаниях вакцин против ВИЧ, у 68% были положительные результаты ИФА и у 0–44% — положительные результаты вестерн-блота, в зависимости от того, какой антиген содержался в вакцине (*Ann Intern Med* 1994; 121:584).
- **Предоставление ложных сведений о ВИЧ-инфекции.** Пациенты могут сообщать о не соответствующих действительности положительных результатах обследования на ВИЧ в прошлом, либо по недоразумению, либо намеренно обманывая врача (*Ann Intern Med* 1994; 121:763). Важно подтверждать результаты анонимного тестирования и повторять лабораторные анализы, результаты которых вызывают сомнение. Таким пациентам следует либо повторно провести серологическое тестирование, либо определить вирусную нагрузку. Следует помнить, что от 2% до 9% анализов на вирусную нагрузку дают ложноположительный результат, при этом обычно показывая низкую концентрацию вируса в крови (*Ann Intern Med* 1999; 130:37).
- **Вакцинация от гриппа.** Вакцинация от гриппа вакциной любого производителя может быть причиной ложноположительного результата скринингового тестирования на ВИЧ-1, предположительно вследствие наличия гомологичных аминокислотных последовательностей у белков оболочек этих вирусов (*Am J Epidemiol* 1995; 141:1089; *NEJM* 2006; 354:1422; *Cell* 1997; 89:263). У таких пациентов подтверждающие анализы дают отрицательный результат.
- **Техническая или канцелярская ошибка** (*Ann Intern Med* 2003; 163:1857).

НЕОПРЕДЕЛЕННЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ. Неопределенные результаты вестерн-блота получают в 4–20% всех случаев, когда выявляются полосы, соответствующие белкам ВИЧ-1. Возможные причины неопределенных результатов:

- **Серологическое обследование проводилось в периоде сероконверсии;** обычно первыми появляются антитела к р24.
- **Поздние стадии ВИЧ-инфекции,** когда обычно исчезают антитела к белкам сердцевины вируса.
- **Наличие перекрестно реагирующих неспецифических антител,** которые появляются при коллагенозах, васкулитах, других аутоиммунных заболеваниях, лимфомах, заболеваниях печени, инъекционном употреблении наркотиков, рассеянном склерозе, наличии беременностей в анамнезе и после недавней вакци-

нации. У 23 из 46 получающих диализ пациентов с ложноположительными результатами скринингового ИФА были получены «неопределенные» результаты вестерн-блота (*Am J Kidney Dis* 1999; 34:146; *Pediatr Nephrol* 2004; 19:547).

- **Инфекция штаммом группы О или ВИЧ-2.**
- **Вакцинация против ВИЧ** (см. выше).
- **Техническая или канцелярская ошибка.**

При получении неопределенных результатов наиболее важно оценить риск инфицирования и определить вирусную нагрузку. Пациенты из групп низкого риска с неопределенными результатами тестирования почти никогда не бывают инфицированы ни ВИЧ-1, ни ВИЧ-2, при этом повторные обследования методом вестерн-блота часто продолжают давать неопределенные результаты, причину которых удается установить достаточно редко (*NEJM* 1990; 322:217). Поэтому таким пациентам следует сообщать, что вероятность ВИЧ-инфекции у них крайне мала, однако для абсолютной уверенности в ее отсутствии рекомендуется определить вирусную нагрузку и через три месяца провести повторное серологическое тестирование по стандартному протоколу. Как правило, у пациентов с неопределенным результатом вестерн-блота, проведенного до завершения сероконверсии, обнаруживается очень высокая вирусная нагрузка, а вестерн-блот становится положительным через месяц. В настоящее время пациентам с неопределенными результатами вестерн-блота рекомендуется выполнять повторное тестирование через 1–2 месяца, хотя во многих случаях диагноз ВИЧ-инфекции можно подтвердить или опровергнуть гораздо быстрее с помощью определения вирусной нагрузки, количества лимфоцитов CD4 и оценки факторов риска заражения ВИЧ (*J Gen Intern Med* 1992; 7:640; *JID* 1991; 164:656; *Arch Intern Med* 2000; 160:2386; *JAIDS* 1998; 17:376).

ОСТРАЯ ВИЧ-ИНФЕКЦИЯ. Для острого ретровирусного синдрома (см. стр. 2) характерны высокая вирусная нагрузка ВИЧ и отрицательный или неопределенный результат серологического обследования на ВИЧ. Этот синдром следует заподозрить у пациентов с типичными симптомами (лихорадкой, фарингитом, аденопатией, сыпью и т. д.), появившимися через 3–4 недели после эпизода с высоким риском заражения ВИЧ, о котором пациенту, возможно, будет трудно вспомнить (*NEJM* 2005; 352:1873). В диагностических целях рекомендуется определить концентрацию РНК ВИЧ в плазме крови и провести серологическое обследование на ВИЧ. В пользу острой ВИЧ-инфекции говорят высокая вирусная нагрузка (>10 000 копий/мл, обычно >100 000 копий/мл) в сочетании с отрицательным или неопределенным результатом серологических анализов (*Ann Intern Med* 2001; 134:25). В случаях, когда вирусная нагрузка определяется с целью диагностики ВИЧ-инфекции, следует крайне настороженно относиться к результатам, указывающим на низкую концентрацию РНК ВИЧ в крови, поскольку они могут быть получены вследствие лабораторной ошибки. Пациентов с острой ВИЧ-инфекцией необходимо предупреждать о высоком риске передачи ВИЧ во время ранней стадии инфекционного процесса, сопровождающейся высокой концентрацией вируса в крови. Очень важно стараться выявлять по возможности всех лиц, которые могли заразиться от пациента с установленным диагнозом острой ВИЧ-инфекции и, возможно, проводить постконтактную профилактику тем, у кого опасный контакт с ВИЧ произошел совсем недавно. По результатам нескольких исследований, до 40% всех случаев передачи ВИЧ за всю жизнь ВИЧ-инфицированного происходит именно во время этой ранней стадии (*JID* 2007; 195:951; *JID* 2005; 3211). Кроме того, у пациента с острой ВИЧ-инфекцией необходимо определить резистентность вируса к препаратам и рассмотреть возможные варианты лечения (см. стр. 33).

ЧАСТОТА ТЕСТИРОВАНИЯ НА ВИЧ. Пациентам, образ жизни которых характеризуется высоким риском заражения ВИЧ, рекомендуется регулярно проходить тестирование на ВИЧ. Периодичность в этом случае может быть произвольной, однако CDC рекомендует проводить обследование на ВИЧ не реже одного раза в год лицам из групп высокого риска (потребителям инъекционных наркотиков, МСМ, работникам коммерческого секса, постоянным половым партнерам ВИЧ-инфицированных и партнерам лиц из групп высокого риска), а также всем, кто сменил полового партнера или заразился ИППП (*MMWR* 2002; 51:736; *MMWR* 2002; 57[RR-6]:7; *MMWR* 2006; 55:1269). Примерные ежегодные показатели процента сероконверсий в различных группах населения: население в целом — 0,001%, новобранцы — 0,04%, МСМ — 0,5–2% (выше среди молодых МСМ), потребители инъекционных наркотиков в регионах

с высокой распространенностью ВИЧ-инфекции — 0,7–6% (*Am J Epidemiol* 1991; 134:1175; *JAIDS* 1993; 6:1049; *Arch Intern Med* 1995; 155:1305; *Am J Public Health* 1996; 86:642; *Am J Public Health* 2000; 90:352; *MMWR* 2001; 50:440).

Альтернативные методы серологического тестирования на ВИЧ

ИММУНОФЛЮОРЕСЦЕНТНЫЙ АНАЛИЗ. Это еще один метод обнаружения антител к ВИЧ, в основе которого лежит взаимодействие между сывороткой пациента и клетками, инфицированными ВИЧ. В качестве метки используется флюорохром.

НАБОРЫ ДЛЯ ЗАБОРА КРОВИ НА ДОМУ. Набор для забора образца крови для тестирования на ВИЧ на дому (Home Access Health Corp., Hoffman Estates, Ill; 800-HIV-TEST) продается в розничных аптеках, также его можно заказать по телефону (1-800-448-8378) и онлайн (www.HomeAccess.com). Стоимость тестирования составляет 50 долл. при сообщении результата через 5 дней и 60 долл. при сообщении результата на следующий день. Капля крови берется из пальца при помощи скарификатора и наносится на полоску фильтровальной бумаги, которая затем отправляется почтой в защищенном конверте с анонимным кодом. Тестирование Home Access включает двукратный ИФА с подтверждением с помощью иммунофлюоресцентного анализа. Чувствительность и специфичность данного протокола приближаются к 100%. В отношении результатов тестирования соблюдается конфиденциальность. В случае положительного результата проводится консультирование по телефону, во время которого прошедшему тестированию рассказывается о ближайших к месту его проживания учреждениях и службах, предоставляющих медицинскую и другие виды помощи ВИЧ-инфицированным. Из 174 316 домашних тестов, проведенных в 1996–1997 годах, 0,9% были положительными, и 97% клиентов позвонили в лабораторию, чтобы узнать результаты обследования (*JAMA* 1998; 280:1699). Преимущества и недостатки такого вида «домашнего» тестирования служат предметом активных обсуждений (*NEJM* 1995; 332:1296), однако в последнее время он завоевывает все большее одобрение и популярность (*NEJM* 2006; 354:437). Недавно на рассмотрение FDA был представлен другой набор для тестирования на дому, результаты которого интерпретируются пользователем. Появление этого теста сделает проверку на ВИЧ в домашних условиях столь же доступной и простой, как тест на беременность. Предварительные результаты рассмотрения поданной в FDA заявки на регистрацию этого теста были благоприятными (*J Clin Microbiol* 2006; 44:3472).

ЭКСПРЕСС-ТЕСТЫ. FDA утвердило к применению шесть серологических экспресс-тестов (см. таблицу 2.2), которые проводятся с разным биологическим материалом и относятся к разным категориям CLIA (www.cdc.gov/hiv/topics/testing/rapid/). Проведение экспресс-тестов регулируется CLIA (Поправкой к Закону, направленной на улучшение качества работы лабораторной службы) 1988 года. Экспресс-тесты относятся к двум категориям CLIA: «простым» и «средней сложности». *OraQuick*, *Clearview* и *Uni-Gold* относятся к простым тест-системам; это означает, что для их применения не требуется наличия специального образования, контроля качества выполнения тестов и уровня профессиональной подготовки персонала. Эти тесты могут проводиться в лабораториях, клиниках, машинах медицинских служб, кабинетах врачей и т. п. Для проведения этих тестов необходимо получить специальный «Отказной сертификат» (Certificate of Waiver) и строго следовать инструкциям фирмы-изготовителя (см. веб-страницу www.cdc.gov/hiv/topics/testing/rapid/#clia_waiver). *Reveal*, *VITROS Anti-HIV-1 & -2* и *Multispot HIV-1/HIV-2* относятся к категории лабораторных тест-систем «средней сложности»; для получения права на работу с этими тест-системами лаборатория должна пройти специальную процедуру регистрации и отвечать стандартам CLIA, касающимся профессиональной подготовки работников лаборатории, системы оценки качества проведения исследований, контроля профессиональных знаний и навыков работников лаборатории, участия в мероприятиях по контролю качества. Розничная стоимость одной тест-системы составляет 15–25 долларов; в финансируемых CDC учреждениях расширенного доступа — 8–9 долларов, однако продажная цена может быть намного выше. Для проведения тестов *Reveal*, *VITROS* и *Multispot* требуются образцы плазмы или сыворотки, поэтому необходимо центрифугирование крови. При проведении любого из тестов

- все пациенты, проходящие тестирование, должны получить специальный информационный буклет для пациентов; эти буклеты поставляются в комплекте с диагностическими наборами (тест-системами);
- отрицательный результат тестирования свидетельствует об отсутствии антител к ВИЧ и не нуждается в подтверждении другими тестами, однако следует помнить о периоде «окна» (первые 3 месяца после заражения ВИЧ), когда антитела к ВИЧ еще не обнаруживаются;
- положительный результат тестирования рассматривается как предварительный и должен быть подтвержден с помощью вестерн-блота или иммунофлюоресцентного анализа. При подтверждении диагноза ВИЧ-инфекции только с помощью тестов, основанных на методах иммуноферментного анализа, можно получить ложноотрицательный результат (*MMWR* 2004; 53:221);
- при получении неопределенного результата тестирования следует повторить через месяц;
- в условиях ограниченных ресурсов положительный результат тестирования следует подтверждать с помощью экспресс-теста другого производителя; это позволяет получить окончательный результат обследования на ВИЧ в течение одного посещения;
- тест-система *UniGold* выявляет не только IgG, но и IgM, поэтому с помощью нее можно выявить больше пациентов на ранней стадии ВИЧ-инфекции.

Таблица 2.2. Экспресс-тесты на ВИЧ, одобренные FDA

Тест-система	Производитель	Образец*	CLIA**	Чувствит., %	Специфичн., %	Примечания
<i>OraQuick</i>	OraSure Technologies www.orasure.com	Кровь	Простые (не требуют сертификации)	100	99,8	ВИЧ-1 и 2 20 мин
		Транссудат слизистой ротовой полости		99,6	99,7	20–40 мин
<i>Uni-Gold Recombigen</i>	Trinity Biotech www.unigoldhiv.com	Кровь	Простые (не требуют сертификации)	100	99,7	ВИЧ-1 10 мин
		Плазма		100	99,8	
		Сыворотка		100	99,8	
<i>Clearview</i>	Inverness Medical www.invernessmedicalpd.com	Кровь	Простые (не требуют сертификации)	99,7	99,9	ВИЧ-1 и 2 15–20 мин
<i>Reveal G₂</i>	MedMira Inc. www.medmira.com	Плазма	Средней сложности	99,8	98,6	ВИЧ-1 5 мин
		Сыворотка		99,8		
<i>Multispot HIV-1/HIV-2</i> HIV-2	Bio-Rad Labs 1-800-224-6723 www.bio-rad.com	Сыворотка	Средней сложности	100	99,9	ВИЧ-1 и 2 15 мин
		Сыворотка		100		
<i>VITROS Anti-HIV-1 & -2</i>	Ortho Clinical Diagnostics www.orthoclinical.com	Сыворотка	Средней сложности	100	99,5	ВИЧ-1 и 2 50 мин

* При исследовании образца цельной крови не требуется проводить центрифугирование или использовать другое лабораторное оборудование.

** Требования CLIA (Clinical Laboratory Improvement Amendment — Поправка к Закону, направленная на улучшение качества работы лабораторной службы) включают аккредитацию лаборатории и соблюдение установленных CLIA стандартов проведения лабораторных анализов, стандартов контроля качества и т. д.

Показатели чувствительности и специфичности этих экспресс-тестов стабильно превышают 99% (*JAIDS* 1993; 6:115; *Am J Emerg Med* 1991; 9:416; *Am Intern Med* 1996; 125:471; *J Human Virol* 2001; 4:278; *Internat J STD AIDS* 2002; 13:171; *J Clin Microbiol* 2003; 41:3868; *J Lab Med* 2003; 27:288), однако прогностическая ценность положительного результата зависит от распространенности ВИЧ-инфекции; соответствующие данные, свидетельствующие о необходимости проведения подтверждающих анализов, приведены в таблице 2.3.

Таблица 2.3. Прогностическая ценность положительного результата однократного тестирования на ВИЧ*

Распространенность ВИЧ	Прогностическая ценность положительного результата		
	<i>Ora-Quick</i>	<i>Uni-Gold</i>	Однократный ИФА
10%	99%	97%	98%
2%	95%	87%	91%
1%	91%	77%	83%
0,5%	83%	63%	71%
0,1%	50%	25%	33%
Специфичность	99,9%	99,7%	99,8%

* Branson B, www.cdc.gov/hiv/topics/testing/rapid/index.htm

ПОКАЗАНИЯ К ПРИМЕНЕНИЮ. Экспресс-тесты рекомендованы для широкого применения, но наибольшую пользу они приносят в ситуациях, когда очень важно быстро узнать результат тестирования, например, после контакта с ВИЧ на рабочем месте (*MMWR* 2001; 50[RR-11]:1; *Infect Control Hosp Epidemiol* 2001; 22:289), при определении ВИЧ-статуса необследованных рожениц (*JAMA* 2004; 292:219), во время выездной работы с группами риска (*MMWR* 2006; 55:673), а также при обследовании пациентов, которые с малой вероятностью придут за результатами тестирования, в том числе посетителей венерологических клиник и пациентов, которым оказывается неотложная помощь (*MMWR* 1998; 47:215). При применении «простых» (по классификации CLIA) тест-систем от забора материала до считывания результата теста проходит в среднем 45 минут (www.cdc.gov/hiv/topics/testing/rapid/index.htm), но для проведения некоторых тестов достаточно всего 10 минут (см. таблицу 2.2, стр. 14).

ПРИМЕНЕНИЕ ЭКСПРЕСС-ТЕСТОВ В УСЛОВИЯХ ОГРАНИЧЕННЫХ РЕСУРСОВ.

Тестирование на ВИЧ — крайне важная составляющая Глобальной программы ВОЗ по СПИДу (WHO Global AIDS) и Президентского плана США по борьбе со СПИДом (программы PEPFAR). Рекомендуется выполнять экспресс-тестирование на ВИЧ с последующим подтверждением положительных результатов с помощью экспресс-теста другого производителя. Существуют опасения в отношении точности результатов, обусловленные многообразием штаммов вирусов и неопределенным качеством проведения экспресс-тестирования вне лабораторий. Рабочая группа по оценке качества экспресс-тестирования (Rapid HIV Test Evaluation Work Group), в которую вошли специалисты ВОЗ и CDC, сообщила о результатах применения *Determine*, *OraQuick*, *Uni-Gold* и 6 других имеющихся в продаже тест-систем (*AIDS Res Hum Retrovir* 2007; 23:1491). При проведении тестирования в лабораториях медиана специфичности составила 100%. При внелабораторном тестировании 735 000 пациентов с серопревалентностью 28% частота совпадения результатов (конкордантности) составила 96,8–99,3% для «положительных» образцов и 98,1–99,7% для «отрицательных» образцов.

АНАЛИЗ СЛЮНЫ. *OraSure* (*OraSure Technologies, Inc.*; Бетлехем, Пенсильвания; 800-672-7873; www.orasure.com) — одобренная FDA тест-система с подушечкой для забора слюны. В подушечке накапливается высокая концентрация IgG для последующего исследования методом ИФА на антитела к ВИЧ. Компания *OraSure* выпускает также тест-системы для скринингового исследования крови на ВИЧ. Тест-системой *OraSure* для анализа слюны можно пользоваться как в медицинских учреждениях, так и в домашних условиях. В этом тесте используется специально обработанная впитывающая подушечка, которую сначала прикладывают к десне для пропитывания слюной, а затем помещают в пробирку с буферным раствором на 20 минут. Результат считывают через 20–40 минут. Количество IgG, получаемое данным методом из слюны, гораздо выше, чем в плазме, и превышает уровень 0,5 мг/л, необходимый для обнаружения антител к ВИЧ. Согласно результатам тестирования на ВИЧ 26 066 пациентов, чувствительность исследования на ВИЧ образцов слюны составила 99,24%, а специфичность — 99,89% по сравнению с исследованиями на ВИЧ образцов крови; всего было 56 (0,22%) дискордантных результатов (*AIDS* 2006; 20:1661). Полученные в одном учреждении 16 ложноположительных

результатов тестирования слюны на ВИЧ снизили показатель специфичности до 99% (*AIDS* 2006; 20:1655). Позже было опубликовано несколько сообщений о высокой частоте ложноположительных результатов при интерпретации этого анализа неспециалистами (*Ann Intern Med* 2008; 149:130; *AIDS Alert* 2008; 23:81; *Intern J STD AIDS* 2008; 19:665; *MMWR* 2008; 57:660). Предполагаемые преимущества исследования слюны по сравнению со стандартным серологическим исследованием крови: предпочтение этого метода пациентами, уменьшение риска контакта с ВИЧ на рабочем месте, возможность проведения тестирования на ВИЧ в местах, где забор крови невозможен. Однако если у пациента все равно берут кровь, то пользоваться этим методом нецелесообразно, учитывая большую частоту ложноположительных результатов. Существует рекомендация сначала проводить тест с кровью из пальца или подтверждать положительный результат анализа слюны на ВИЧ с помощью экспресс-тестирования крови или стандартного серологического тестирования. Эта рекомендация была сделана до того, как FDA разрешило безрецептурную продажу теста на ВИЧ для использования в домашних условиях, результаты которого оцениваются пользователем таким же образом, как результаты теста на беременность (*NEJM* 2006; 354:437). Он отличается от продающегося сейчас теста на ВИЧ в домашних условиях, позволяющего только взять образец крови на ВИЧ и отослать в лабораторию для анализа с получением результата теста по телефону и последующим консультированием в случае положительного результата, во время которого прошедшему тестированию рассказывается о ближайших к месту его проживания учреждениях и службах, предоставляющих медицинскую и другие виды помощи ВИЧ-инфицированным.

АНАЛИЗ МОЧИ. Диагностический набор для проведения ИФА мочи на ВИЧ-1 *Calypte* (*Calypte Biomedical Corp*; Аламеда, Калифорния; 877-225-9783; www.calypte.com) утвержден FDA как скрининговый метод. Этот тест может проводиться только врачом, и положительные результаты необходимо подтверждать при помощи стандартного протокола серологического тестирования, включающего вестерн-блот. По результатам исследований чувствительность теста составляет 99% (88 из 89), специфичность — 94% (49 из 52) (*Lancet* 1991; 337:183; *Clin Chem* 1999; 45:1602; *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2004; 23:831). Фирма-изготовитель включила в набор информационный листок для дотестового консультирования, который должен быть прочитан пациенту и подписан им перед проведением теста. В продаже есть комплекты из 192 индивидуальных диагностических наборов за 816 долл. или из 480 наборов за 1920 долл. Таким образом, стоимость одного набора составляет около 4 долларов.

Таблица 2.4. Анализы на ВИЧ-1

Метод	Чувст.	Дополнительные сведения
Стандартный протокол серологического тестирования	99,7%	Доступно и недорого. Чувствительность >99,7%, специфичность >99,9% (<i>MMWR</i> 1990; 38:380; <i>NEJM</i> 1988; 319:961; <i>JAMA</i> 1991; 266:2861).
Экспресс-тест См. стр. 13 и таблицу 2.2	99,6%	Результат готов через 20 минут. Преимущества «простых» тестов по классификации CLIA (<i>Ora-Quick</i> , <i>Clearview</i> и <i>Uni-Gold Recombigen</i>) состоят в том, что для тестирования не требуется лабораторного оборудования, получение результата занимает не более 20 минут и для интерпретации результата не требуется специальной подготовки. Отрицательный результат тестирования не требует подтверждения; положительный результат следует подтвердить методом вестерн-блота. В таблице 2.2 перечислены экспресс-тесты, одобренные FDA для применения в США (www.cdc.gov/hiv/topics/testing/rapid/index.htm). Существуют и другие экспресс-тесты, но они не лицензированы FDA (<i>Int J STD AIDS</i> 2006; 17:357; <i>Vox Sang</i> 1997; 72:11; <i>J Clin Microbiol</i> 2004; 42:3850).
Анализ слюны (тест-система <i>OraSure</i>) См. стр. 16	99,6%	Приспособление для сбора IgG из слюны для исследования методами ИФА и вестерн-блота. Преимущество: нет необходимости в заборе крови. При условии правильной интерпретации чувствительность такая же, как у тест-систем для исследования крови (<i>JAMA</i> 1997;227:254), но специфичность, согласно результатам ряда исследований, недостаточно высокая (см. текст).
Анализ мочи (<i>Calypte HIV-1 Test</i>) См. стр. 17	>99%	Исследуется только методом ИФА, поэтому положительные результаты должны подтверждаться при помощи стандартного протокола серологического тестирования. Проводится врачом. Стоимость невелика — около 4 долл. за один анализ.
Выделение вируса в культуре МКПК	95–100%	Для выделения вируса МКПК пациента в течение 28 дней инкубируют со стимулированными фитогемагглютинином донорскими МКПК в присутствии ИЛ-2. Метод дорогой и трудоемкий. Может быть качественным и количественным. Основное применение качественного метода — выделение вируса для дальнейшего изучения (например, секвенирования). Исследования, предшествовавшие появлению количественной ПЦР на РНК ВИЧ, показали, что результаты количественного анализа культуры коррелируют со стадией заболевания: средний титр ВИЧ у пациентов со СПИДом составлял $2000/10^6$ клеток (<i>NEJM</i> 1989; 321:1621).
ПЦР на провирусную ДНК	>99%	Качественная ПЦР на ДНК ВИЧ используется для обнаружения интегрированной в клетку провирусной ДНК, в том числе в периферических лимфоцитах CD4 (резервуарах ВИЧ) при обследовании пациентов, отвечающих на ВААРТ. Порог чувствительности метода составляет около 5 копий на 10^6 клеток (<i>J Virol Methods</i> 2005; 124:157). Считается недостаточно точным для установления окончательного диагноза ВИЧ-инфекции; его результаты требуют подтверждения. Метод не утвержден FDA (<i>Ann Intern Med</i> 1996; 124:803), хотя в отдельных случаях его используют при наличии сомнений в правильности результатов других тестов и при неопределенных результатах серологических анализов.
ПЦР на РНК ВИЧ	95–98%	Ложноположительные результаты в 2–9% случаев, обычно показывают низкую вирусную нагрузку (<10 000 копий/мл). Чувствительность анализа зависит от вирусной нагрузки, порога определения, применения и эффективности антиретровирусной терапии. Чувствительность около 100% при острой ВИЧ-инфекции; специфичность в среднем 97%, но при вирусной нагрузке >10 000 копий/мл приближается к 100%.
Антиген p24	30–90%	Благодаря небольшой стоимости иногда используется в качестве альтернативы анализу на РНК ВИЧ для диагностики острой ВИЧ-инфекции. Специфичность 100%, но чувствительность около 90% — меньше, чем у количественных анализов на РНК ВИЧ (<i>Ann Intern Med</i> 2001; 134:25). Он также применяется в качестве дешевого альтернативного способа определения вирусной нагрузки в условиях ограниченных ресурсов (<i>J Clin Micro</i> 2005; 43:506).

КАЧЕСТВЕННЫЙ АНАЛИЗ НА РНК ВИЧ. Диагностический набор для качественного определения РНК ВИЧ-1 *Aptima* (GenProbe, Сан-Диего, Калифорния) обнаруживает РНК ВИЧ-1 в плазме крови, поэтому им можно пользоваться для диагностики острой ВИЧ-инфекции или для подтверждения результата стандартного серологического тестирования на ВИЧ. Тест-система *Aptima* получила одобрение FDA в октябре 2006 года. Это единственная тест-система, одобренная FDA для выявления острой ВИЧ-инфекции. Однако большинство специалистов указывают на то, что для этой цели можно определять вирусную нагрузку ВИЧ при помощи стандартных методик, опыт применения которых намного больше, к тому же это не требует дополнительных затрат.

Обнаружение вируса

Другие методы диагностики ВИЧ-инфекции включают выявление провирусной ДНК ВИЧ-1 методом ПЦР или РНК ВИЧ-1 методами рДНК или ОТ-ПЦР (табл. 2.4, стр. 18). Самым чувствительным методом является ПЦР на ДНК ВИЧ-1, с его помощью можно обнаружить от 1 до 10 копий провирусной ДНК ВИЧ, однако реактивы для данного метода пока должным образом не стандартизованы и не утверждены FDA. Ни одна из этих методик не дает более точных результатов, чем стандартный протокол серологического тестирования, но они могут быть полезны для уточнения неопределенных результатов серологических анализов, а также для диагностики ВИЧ-инфекции в случаях, когда серологическое тестирование может со значительной вероятностью давать ошибочный результат, например, у пациентов с агаммаглобулинемией, острой ретровирусной инфекцией, у новорожденных и у пациентов в «периоде окна» после инфицирования. В большинстве случаев положительные результаты серологического анализа достаточно подтвердить с помощью повторного серологического анализа или теста на вирусную нагрузку.

Количественное определение РНК ВИЧ в плазме (вирусная нагрузка)

МЕТОДЫ (см. таблицу 2.5, стр. 24)

- **ПЦР на РНК ВИЧ** (*Amplicor HIV-1 Monitor Test 1.5*, фирма-изготовитель Roche; 800-526-1247)
- **Метод разветвленной ДНК (рДНК)** (*Versant HIV-1 RNA 3.0 Assay*, фирма-изготовитель Siemens Diagnostics (ранее Bayer); 800-434-2447)
- **Изотермальная реакция амплификации последовательностей нуклеиновых кислот (NASBA)** (*NucliSens HIV-1 QT*, фирма-изготовитель bioMérieux, 800-682-2666)

ВОСПРОИЗВОДИМОСТЬ РЕЗУЛЬТАТОВ. Как показано в таблице 2.5, у каждой тест-системы свой нижний порог чувствительности и динамический диапазон (*J Clin Microbiol* 1996; 34:3016; *J Med Virol* 1996; 50:293; *J Clin Microbiol* 1996; 34:1058; *J Clin Microbiol* 1998; 36:3392). Два стандартных отклонения (95% доверительный интервал) для результатов анализов составляют 0,3–0,5 \log_{10} (т. е. результаты могут отличаться в 2–3 раза) (*JID* 1997; 175:247; *AIDS* 1999; 13:2269). Это значит, что 95% доверительный интервал для значения 10 000 копий/мл составляет от 3 100 до 32 000 копий/мл. Значения вирусной нагрузки, полученные при использовании тест-системы *Amplicor 1.5* (Roche) и методом рДНК (*Versant 3.0*), близки, за исключением нижнего участка линейного диапазона (<1500 копий/мл) (*J Clin Microbiol* 2000; 38:2837; *J Clin Microbiol* 2000; 38:1113). Сравнение результатов, полученных при использовании *NucliSens* (bioMérieux), с результатами, полученными при использовании других методик, было проведено в меньшем объеме, но полученные числовые значения были сопоставимы (*J Clin Microbiol* 2000; 38:3882; *J Clin Microbiol* 2000; 38:2837).

ПОДТИПЫ ВИЧ. При определении вирусной нагрузки не-B-подтипов ВИЧ наблюдается значительно больший разброс показателей. Метод разветвленной ДНК (*Versant 3.0*) несколько превосходил остальные методики в отношении определения вирусной нагрузки ВИЧ подтипов A–D, F, G, CRF01_AE и CRF01_AG (межподтиповых рекомбинантных форм) и O; при использовании этого метода 83% результатов

различались не более чем на 0,5 log₁₀. При использовании *Amplicor Monitor 1.5* этот показатель был 74%, а для *NucliSens* — 61% (*J Clin Microbiol* 2005; 43:3860). Результаты других исследований подтверждают эти данные (*J Med Virol* 2006; 78:883; *JAIDS* 2002; 29:330).

ПОЛОВЫЕ РАЗЛИЧИЯ. Метаанализ 12 публикаций выявил наличие умеренных различий уровня вирусной нагрузки у мужчин и женщин: оказалось, что вирусная нагрузка у женщин в среднем на 0,23 log₁₀/мл (приблизительно в 2 раза) ниже, чем у мужчин (*JAIDS* 2002; 31:11). Однако эти различия исчезают при количестве лимфоцитов CD4 <300 мкл⁻¹ и поэтому практически не влияют на решения относительно лечения (*JAIDS* 2000; 24:218; *JID* 1999; 180:666; *CID* 2002; 35:313; *Lancet* 1998; 352:1510; *NEJM* 2001; 344:720).

СТОИМОСТЬ. От 100 до 150 долл. за один анализ (Medicare возмещает от 111 до 130 долл.).

ПОКАЗАНИЯ К ОПРЕДЕЛЕНИЮ ВИРУСНОЙ НАГРУЗКИ

- **Диагностика первичной (острой) ВИЧ-инфекции.** Выявление ВИЧ-инфекции на ранней (первичной, острой) стадии при помощи определения вирусной нагрузки позволяет своевременно предупредить ВИЧ-инфицированного о необходимости профилактики передачи ВИЧ и рассказать о способах такой профилактики, а также выявить лиц, подвергавшихся опасности заражения ВИЧ. Кроме того, возможно, это оптимальный момент для определения резистентности ВИЧ (стандарты DHHS от 3 ноября 2008 г.; *NEJM* 2005;352:1873). В большинстве случаев во время острой инфекции определяется высокая концентрация вируса в крови (10⁵–10⁶ копий/мл). Необходимо помнить, что у 2–9% людей, не инфицированных ВИЧ, исследование дает ложноположительные результаты, практически всегда показывая низкую концентрацию РНК ВИЧ (<10 000 копий/мл) (*Ann Intern Med* 1999; 130:37; *J Clin Microbiol* 2000; 38:2837; *Ann Intern Med* 2001; 134:25). Можно также определить антиген ВИЧ p24, этот метод дешевле (20 долл. вместо 100 долл.) и обладает высокой специфичностью, но чувствительность его составляет только 89% (*Ann Intern Med* 2001; 134:25). В штате Северная Каролина применялся следующий протокол выявления больных острой ВИЧ-инфекцией: из образцов крови с отрицательными или неопределенными результатами стандартного серологического тестирования отбирается по 200 мкл крови и формируются «малые» пулы (смеси) из каждых 10 образцов. Затем отбирается по 200 мкл крови из девяти малых пулов и формируются «большие» пулы. При положительном результате исследования «большого» пула методом ОТ-ПЦР сначала исследуются все «малые» пулы, которые входят в этот «большой» пул, а потом исследуются все индивидуальные образцы крови, входящие в «малые» пулы с положительным результатом ОТ-ПЦР на РНК ВИЧ (*JAMA* 2002; 288:216). Все положительные результаты подтверждаются дополнительными исследованиями. В Северной Каролине применение этого протокола занимало 14 дней; стоимость исследования одного образца составляла 2,01 долл. Этот протокол использовался для прослеживания контактов по ВИЧ-инфекции, поскольку острая ВИЧ-инфекция характеризуется высоким риском передачи ВИЧ (*JID* 2005; 191:1403). По этому протоколу в Северной Каролине в течение года было обследовано 109 250 человек, из которых 606 были серопозитивны, а у 23 была обнаружена острая ВИЧ-инфекция. За последующий период с 2002 по 2007 год было выявлено 89 случаев острой ВИЧ-инфекции; было обследовано 67 контактных лиц, из которых 11 человек оказались инфицированными. Соответственно, частота выявления ВИЧ-инфекции среди контактных лиц составила приблизительно 2 случая в год (McCoу S. CROI, 2008; тезисы №531).
- **Прогноз.** Вирусная нагрузка коррелирует со скоростью снижения количества лимфоцитов CD4 (*JID* 2002; 185:908), однако эта зависимость не такая сильная, как считалось ранее (*JAMA* 2006; 296:1523). Зависимость течения заболевания от вирусной нагрузки наиболее всесторонне изучалась в ходе исследования сохраненных образцов сывороток крови участников Многоцентрового когортного исследования СПИДа (MACS), в котором была установлена стойкая зависимость между «равновесной точкой» вирусной нагрузки и скоростью клинического прогрессирования ВИЧ-инфекции, при этом последняя не зависела от исходного количества лимфоцитов CD4 (*Ann Intern Med* 1995; 122:573; *Science* 1996; 272:1167; *JID* 1996; 174:696; *JID* 1996; 174:704; *AIDS* 1999; 13:1305; *NEJM* 2001;

349:720; *AIDS* 2002; 16:2455; *Lancet* 2003; 362:679; *JAIDS* 2005; 38:289). В эпоху ВААРТ эта зависимость потеряла актуальность, поскольку сейчас исход заболевания определяется эффективностью проводимой терапии и значительно меньше зависит от величины исходной вирусной нагрузки (*AIDS* 2006; 20:1197; *CID* 2006; 42:136; *JID* 2004; 190:280). Даже при отсутствии ВААРТ скорость снижения лимфоцитов CD4, по-видимому, зависит от других факторов, влияющих на активацию иммунной системы (*Nat Med* 2006; 12:1365). Наличие зависимости подтверждается быстрым снижением количества лимфоцитов CD4 на фоне стремительного возвращения концентрации вируса в крови к исходному уровню (до лечения) после прекращения ВААРТ (*NEJM* 2003; 349:837) и стабильно нормальным уровнем лимфоцитов CD4 у «элитных контроллеров» (*JID* 2008; 197:563).

- **Риск развития оппортунистических инфекций.** Оказалось, что у пациентов с количеством лимфоцитов CD4 <200 мкл⁻¹ величина вирусной нагрузки позволяет прогнозировать риск оппортунистических инфекций независимо от количества лимфоцитов CD4 (*JAMA* 1996; 276:105; *AIDS* 1999; 13:341; *AIDS* 1999; 13:1035; *JAIDS* 2001; 27:44; *JID* 2006; 194:633). ACTG 722 было единственным крупным проспективным исследованием, в ходе которого было показано, что если у пациентов с количеством лимфоцитов CD4 <150 мкл⁻¹ не удастся снизить вирусную нагрузку на $\geq 1 \log_{10}$ /мл, риск оппортунистических инфекций возрастает в 15 раз (*JAIDS* 2002; 30:154). Ретроспективный анализ историй болезни более чем 12 000 пациентов показал, что количество лимфоцитов CD4 — лучший прогностический показатель риска возникновения состояний и заболеваний, включенных в диагностические критерии СПИДа (*Lancet* 2002; 360:119).
- **Вероятность передачи ВИЧ.** Вероятность передачи ВИЧ при практически любом виде контакта находится в прямой зависимости от уровня вирусной нагрузки (*NEJM* 2000; 342:921; *JAIDS* 1996; 12:427; *JAIDS* 1998; 17:42; *JAIDS* 1999; 21:120; *JID* 2002; 185:428; *Lancet* 2001; 357:1149; *AIDS* 2001; 15:621; *CID* 2002; 34:391; *JID* 2005; 191:1403; *AIDS* 2006; 20:895). В январе 2008 года Швейцарская федеральная комиссия по борьбе с ВИЧ/СПИДом опубликовала заявление П. Вернаццы (P. Vernazza), Б. Хиршела (B. Hirschel) и Е. Бернаскони (E. Bernasconi) о том, что эффективная АРТ (определяемая как стабильный уровень вирусной нагрузки <40 копий/мл в течение более 6 месяцев) исключает риск передачи ВИЧ при половом контакте (*Bulletin des Medecins Suisses* 2008; 89:5) при условии отсутствия сопутствующей инфекции, передающейся половым путем.

Научные обоснования этого заявления:

- В ходе четырех исследований, в которых участвовали дискордантные пары, не было выявлено случаев сероконверсии при неопределяемой вирусной нагрузке у ВИЧ-инфицированного партнера (*NEJM* 2000; 342:921; *JAIDS* 2005; 40:96; Melo M. 16-я конференция IAS, 2006; тезисы TUPE 0430; *JAIDS* 2006; 43: 324).
- Отсутствие способных к инфицированию вирионов ВИЧ в секрете половых органов мужчин и женщин на фоне неопределяемой вирусной нагрузки (*AIDS* 2000;14:117; *AIDS* 2000; 14:415; *JID* 2006; 52: 290; *JAIDS* 2006; 42:584; *JAIDS* 2007; 44:38).

Значительное снижение риска передачи ВИЧ на фоне неопределяемой вирусной нагрузки сомнения не вызывает, однако мнение о полном отсутствии риска разделяется далеко не всеми специалистами, которые указывают на возможность несоответствия уровней вирусной нагрузки в крови и секрете половых органов, на малые размеры выборок в исследованиях с участием дискордантных пар, а также на возможность колебаний вирусной нагрузки в крови с повышением до определяемых значений в промежутках между измерениями (*STD* 2008; 35:55).

- **Наблюдение за эффективностью терапии.** После начала терапии наблюдается быстрое снижение уровня РНК ВИЧ в течение 2–4 недель (альфа-спад), отражающее действие лекарственных препаратов на ВИЧ — как на свободные вирионы ВИЧ в плазме, так и на ВИЧ в первично инфицированных лимфоцитах CD4. За этим следует второе снижение вирусной нагрузки (бета-спад), оно более длительное (месяцы) и менее выраженное (см. количественные показатели ниже, в разделе «Частота лабораторных обследований при наблюдении за эффективностью терапии»). Бета-спад отражает эффективность противовирусного

действия препаратов на зараженные ВИЧ макрофаги и ВИЧ, высвобождающийся из других резервуаров, особенно дендритных клеток лимфатических фолликулов, которые захватывают вирус. Максимальный противовирусный эффект ожидается через 4–6 месяцев. Считается, что вирусная нагрузка — самый важный «барометр» эффективности терапии, хотя лучшим прогностическим показателем клинического прогрессирования ВИЧ-инфекции служит количество лимфоцитов CD4 (*NEJM* 1996; 335:1091; *Ann Intern Med* 1996; 124:984; *JID* 2002; 185:178). В ходе исследований нуклеотидных последовательностей клонов ВИЧ было установлено, что при уровне вирусной нагрузки менее 50 копий/мл не происходит формирования резистентных штаммов вируса — это наиболее важный аргумент в пользу необходимости поддержания вирусной нагрузки на этом уровне в течение как можно более длительного времени (*JID* 2004; 189:1452; *JID* 2004; 189:1444). С практической точки зрения на этом уровне не происходит репликации вируса и вероятность возникновения резистентности очень мала. Тем не менее, некоторые «всплески» вирусной нагрузки, связанные с пропуском приема дозы антиретровирусного препарата, могут привести к развитию резистентности и неэффективности терапии (*JID* 2007; 193:1773).

- **Неожиданно низкая вирусная нагрузка.** У очень небольшого числа пациентов в течение длительного времени вирусная нагрузка сохраняется на низком уровне, а количество лимфоцитов CD4 остается стабильно высоким; таких пациентов называют «длительными непрогрессорами». Еще реже встречаются «элитные контроллеры», у которых вирусная нагрузка больше года держится на уровне ниже 50 копий/мл без антиретровирусной терапии (*Top HIV Med* 2007;15:134). Эти пациенты по показателям кинетики вирусной нагрузки похожи на пациентов, у которых достигнута полная супрессия вируса на фоне ВААПТ (*CID* 2008; 47:102). В другую группу, «виремических контроллеров», входят ВИЧ-инфицированные, у которых вирусная нагрузка больше года держится на уровне ниже 2000 копий/мл без антиретровирусной терапии. Элитные контроллеры встречаются с частотой 1 случай на 300 ВИЧ-инфицированных (*J Exp Med* 2006; 203: 1357). По-видимому, такая необычная способность вирусологического контроля предопределена генетически (*Science* 2007; 317:944; *Nat Genet* 2007; 39:733; *Antivir Ther* 2007; 27:406; *JID* 2008; 197:563). Обычно у таких людей обнаруживается стабильно высокий уровень лимфоцитов CD4, однако описаны также исключения из этого правила: у некоторых ВИЧ-инфицированных несмотря на стабильно неопределяемый уровень вирусной нагрузки обнаруживается низкое количество лимфоцитов CD4, предположительно обусловленное активацией иммунной системы другими факторами (*CID* 2008; 46:e78).
- **Различия результатов измерений вирусной нагрузки в зависимости от подтипа ВИЧ.** Стандартные методы определения вирусной нагрузки дают наиболее точные результаты для ВИЧ подтипа В, однако также одобрены FDA для количественного определения РНК ВИЧ подтипов А–G. В ходе исследования, в котором изучались возможности применения различных тест-систем для определения вирусной нагрузки в случае инфицирования не-В-подтипами ВИЧ, было установлено, что частота случаев регистрации неопределяемой вирусной нагрузки или расхождения результатов более чем на 1 log₁₀ копий/мл для *Amplicor Monitor* 1.5 составила 3%, для *Versant* 3.0 — 9%, и для *NucliSens* — 15% (*J Clin Microbiol* 2005; 43:3860). На сегодняшний день тест-системы для определения вирусной нагрузки для ВИЧ-2 (концентрации РНК ВИЧ-2) в продаже нет.
- **Резервуары ВИЧ в организме.** ВИЧ способен длительно персистировать в некоторых тканях и клетках организма человека, в которых концентрация антиретровирусных препаратов может сильно отличаться от концентрации в плазме крови и в которых могут создаваться условия для селекции резистентных штаммов. Основной резервуар — это латентные («спящие») клетки иммунной системы, несущие рецептор CD4; также ВИЧ сохраняется в ЦНС, лимфоидной ткани ЖКТ (GALT) и половых путях (*AIDS* 2002; 16:39; *J Clin Microbiol* 2000; 38:1414; *Ann Intern Med* 2007;146:591; *PNAS* 2008;105: 3879; *Ann Rev Med* 2008;59:487).

РЕКОМЕНДАЦИИ основаны на стандартах Американского отделения Международного общества борьбы со СПИДом (IAS-USA) (*JAMA* 2006; 296:827) и стандартах Министерства здравоохранения и социальных служб США (DHHS) от 3 февраля 2008 г. (www.aidsinfo.nih.gov/guidelines). Характеристики некоторых имеющихся в продаже тест-систем приведены в таблице 2.5 для сравнения.

- **Условия получения достоверного результата.** Вирусную нагрузку рекомендуется измерять на фоне стабильного клинического состояния, не ранее чем через 4 недели после вакцинации или перенесенной инфекции, одним и тем же методом в одной и той же лаборатории.
- **Частота лабораторных обследований при наблюдении за эффективностью терапии.** Всем пациентам после измерения исходного уровня вирусной нагрузки (перед началом лечения) контрольные измерения следует проводить регулярно, каждые 3–6 месяцев (*CID* 2001; 33:1060). В начале антиретровирусной терапии и после изменения схемы терапии вирусную нагрузку измеряют через 1–4 недели (альфа-спад), затем через 12–16 недель и 16–24 недели. Об эффективности лечения свидетельствует снижение вирусной нагрузки на 0,75–1,0 \log_{10} копий/мл от исходной через 1 неделю (*Lancet* 2001; 358:1760; *JAIDS* 2002; 30:167), снижение на 1,5–2 \log_{10} копий/мл (до <5000 копий/мл) через 4 недели (*JAIDS* 2000; 25:36; *AIDS* 1999; 13:1873; *JAIDS* 2004; 37:1155), снижение вирусной нагрузки до уровня <500 копий/мл через 8–16 недель (*Ann Intern Med* 2001; 135:945; *JAIDS* 2000; 24:433) и до уровня <50 копий/мл через 24–48 недель. В швейцарском руководстве 2003 года вирусологическая неэффективность (неудача) терапии определяется как снижение вирусной нагрузки менее чем на 1,5 \log_{10} копий/мл через 4 недели или сохранение вирусной нагрузки на уровне, превышающем порог определения, через 4 месяца от начала терапии (*Scand JID* 2003; 35:155). Время достижения максимального снижения вирусной нагрузки зависит от ее исходного уровня, а также от противовирусной активности входящих в схему лечения препаратов, степени соблюдения пациентом режима лечения, особенностей фармакокинетики и фармакодинамики препаратов и резистентных свойств вируса. Чем выше вирусная нагрузка, тем дольше приходится ждать ее снижения до минимального уровня. Если вирусная нагрузка через 4 недели снизилась менее чем на 1 \log_{10} копий/мл (90%), то причиной этому могут быть недостаточное соблюдение пациентом режима лечения, резистентность вируса или недостаточная системная экспозиция (AUC) лекарственного препарата. На фоне терапии ожидается снижение вирусной нагрузки до уровня <50 копий/мл через 16–24 недели (*JAMA* 2006; 296:827; *J Clin Invest* 2000; 105:777). Вирусную нагрузку следует определять каждые 3–6 месяцев, чтобы убедиться, что она сохраняется на уровне ниже 50 копий/мл (*JID* 1999; 180:1347). «Всплески» вирусной нагрузки (см. стр. 94) обычно не приводят к значимым последствиям, однако могут указывать на недостаточное соблюдение режима приема препаратов (*JID* 2007; 196:1773), а стабильное превышение уровня 50 копий/мл указывает на вирусологическую неэффективность терапии (*JAMA* 2005; 293:817; *J Antimicrob Chemother* 2008; 61:699).
- **Интерпретация результатов.** Значимыми считаются изменения уровня РНК ВИЧ на $\geq 50\%$ (на 0,3 \log_{10} копий/мл).
- **Факторы, коррелирующие с повышением вирусной нагрузки:**
 - смена доминирующего штамма ВИЧ, когда вирус, не способный образовывать синцитий (использующий в качестве корецептора хемокиновый рецептор CCR5), вытесняется вирусом, способным образовывать синцитий (использующим в качестве корецептора хемокиновый рецептор CXCR4);
 - прогрессирование ВИЧ-инфекции;
 - неудача антиретровирусного лечения из-за недостаточной противовирусной активности препаратов, недостаточных концентраций препаратов в организме, несоблюдения режима лечения и резистентности вируса;
 - суперинфекция ВИЧ (*JID* 2005; 192:438);
 - острые инфекционные заболевания: на фоне активной формы туберкулеза вирусная нагрузка повышается в 5–160 раз (*J Immunol* 1996; 157:1271); на фоне пневмококковой пневмонии вирусная нагрузка повышается в 3–5 раз;
 - прививки, в том числе введение гриппозной и пневмококковой вакцин (*Blood* 1995; 86:1082; *NEJM* 1996; 335:817; *NEJM* 1996; 334:1222). В этом случае повышение вирусной нагрузки небольшое и сохраняется от 2 до 4 недель.

Таблица 2.5. Сравнительная характеристика одобренных FDA тест-систем, основанных на разных методах измерения вирусной нагрузки

	Roche	Siemens	bioMérieux
Торговое название	<i>Amplicor HIV Monitor 1.5</i>	<i>Versant HIV-1 RNA 3.0</i>	<i>NucliSens HIV-1 QT</i>
Техника	ОТ-ПЦР	рДНК	NASBA
Сравнение результатов	Результаты, получаемые методом ОТ-ПЦР, сопоставимы с результатами, получаемыми методом рДНК (<i>Versant</i>) с использованием тест-систем 2.0 и 3.0	Результаты, получаемые методом рДНК, сопоставимы с результатами, получаемыми методом ОТ-ПЦР (<i>Amplicor</i>)	Результаты, по-видимому, сопоставимы с результатами, получаемыми методами ОТ-ПЦР и рДНК, но пока не получено достаточно подтверждающих данных
Преимущества и недостатки	<ul style="list-style-type: none"> Меньше ложноположительных результатов у ВИЧ-отрицательных пациентов по сравнению с методом рДНК. 	<ul style="list-style-type: none"> Выполнение исследования занимает меньше времени у лаборанта. Хороший динамический диапазон, но выше порог определения вирусной нагрузки. 	<ul style="list-style-type: none"> Может применяться для обнаружения вируса в тканях и биологических жидкостях, например, выделениях половых путей. Самый большой динамический диапазон.
Динамический диапазон	<ul style="list-style-type: none"> Стандартный (<i>Amplicor 1.5</i>): 400–750 000 копий/мл Суперчувствительный (<i>Ultra-Direct 1.5</i>): 50–100 000 копий/мл 	рДНК 3.0: 75–500 000 копий/мл*	<i>NucliSens HIV-1 QT</i> : 176–3 500 000 копий/мл в зависимости от объема
Подтип вируса	<ul style="list-style-type: none"> Тест-система 1.5: от А до Н 	от А до Н	от А до Н
Необходимый объем материала для исследования	<ul style="list-style-type: none"> <i>Amplicor</i>: 0,2 мл Суперчувствительный: 0,5 мл 	1 мл	От 10 мкл до 2 мл
Пробирки	ЭДТА (пробирка с сиреневой крышкой)	ЭДТА (пробирка с сиреневой крышкой)	ЭДТА, гепарин, цельная кровь, любая биологическая жидкость, МКПК, семенная жидкость, ткани и т. д.
Требования	Отделить плазму не позже чем через 6 часов после забора крови, перед транспортировкой заморозить при температуре –20°С или –70°С.	Отделить плазму не позже чем через 4 часа после забора крови, перед транспортировкой заморозить при температуре –20°С или –70°С.	Отделить сыворотку или плазму не позже чем через 4 часа после забора крови, перед транспортировкой заморозить при температуре –20°С или –70°С.
Контактный телефон	800-526-1247	800-434-2447	800-682-2666

* Нижнее пороговое значение вирусной нагрузки, установленное FDA, составляет 75 копий/мл. За пределами США нижнее пороговое значение вирусной нагрузки составляет 50 копий/мл.

- **Относительные преимущества различных тест-систем.** У тест-системы *Versant 3.0* хорошая воспроизводимость результатов для вирусных нагрузок в диапазоне 75–500 000 копий/мл. Линейный динамический диапазон для суперчувствительной тест-системы *Amplicor* составляет 50–100 000 копий/мл. Эту тест-систему не следует использовать при обследовании пациентов, у которых ожидается более высокая вирусная нагрузка (*J Clin Microbiol* 2000; 38:2837). У тест-системы *NucliSens* широкий динамический диапазон (176–3 500 000 копий/мл), и ее можно использовать для измерения количества вируса как в крови, так и в других биологических жидкостях и тканях, например, в семенной жидкости, спинномозговой жидкости, грудном молоке, слюне и вагинальных выделениях (*J Clin Microbiol* 2000; 38:1414).

Количество лимфоцитов CD4

Определение количества лимфоцитов CD4 — стандартное исследование, проводимое для оценки вероятности прогрессирования ВИЧ-инфекции до стадии СПИДа или наступления смерти и составления перечня наиболее вероятных осложнений для проведения дифференциальной диагностики при симптоматическом течении ВИЧ-инфекции (см. табл. 1.2, стр. 3), а также для принятия решений относительно антиретровирусной терапии и профилактики оппортунистических инфекций. Это самый надежный прогностический показатель (*Ann Intern Med* 1997; 126:946; *Lancet* 2002; 360:119; *Lancet* 2003; 362:679). Результаты анализа данных 16 214 участников 13 когортных исследований подтвердили, что количество лимфоцитов CD4 — самый надежный предиктор смерти ВИЧ-инфицированных (*Lancet* 2004; 364:51). Зависимость между количеством клеток CD8 и течением (или исходом) ВИЧ-инфекции установить не удалось (*NEJM* 1990; 322:166), однако чем длительнее период времени, проходящий от сероконверсии ВИЧ до снижения иммунорегуляторного индекса (отношения CD4/CD8) до значения меньше единицы, тем вероятнее медленное прогрессирование ВИЧ-инфекции (*JAIDS* 2006; 42:620). ВИЧ-специфичные клетки CD8 (экспрессирующие рецептор CD38) играют важную роль в борьбе с ВИЧ, но определять их количество у всех ВИЧ-инфицированных не представляется возможным (*Science* 1999; 283:857; *JAIDS* 2002; 29:346).

- **Методика.** Стандартная методика определения количества лимфоцитов CD4 подразумевает использование проточных цитометров и гематологических анализаторов. Для анализа требуется свежая кровь (с момента забора должно пройти не более 18 часов); его стоимость составляет от 50 до 150 долларов. Страны с ограниченными ресурсами остро нуждаются в быстрых, простых и экономичных методах определения количества лимфоцитов CD4. Этим требованиям отвечают множество лабораторных систем, в том числе проточные цитометры *FACSCount* компании Becton Dickinson и *CyFlow* компании Partec, настольные лабораторные системы компаний Guava и PointCare Technologies, а также системы, основанные на микрочипах (*Cytometry* 2002; 50:69; *BMJ* 2001; 323:809; *J Immunol Methods* 1999; 222:209; *J Clin Virol* 2000; 17:101; *JAIDS* 2006; 41:607; *J Transl Med* 2006; 4:33; *Clin Diagn Lab Immunol* 2005; 12:1416; *PLoS* 2005; 2:e182). Согласно текущему отчету 2008 года, стало возможным создать приемлемый по стоимости портативный анализатор для определения количества лимфоцитов CD4 вне лабораторий (в местах оказания помощи ВИЧ-инфицированным); он появится, вероятно, в 2009 году.
- **Диапазон нормальных значений.** В большинстве лабораторий за норму принято количество лимфоцитов CD4 800–1050 мкл⁻¹; диапазон в два стандартных отклонения составляет приблизительно 500–1400 мкл⁻¹ (*Ann Intern Med* 1993; 119:55).
- **Частота определения количества лимфоцитов CD4.** Количество лимфоцитов CD4 следует определять при первичном осмотре (исходный уровень); некоторые специалисты рекомендуют перед началом терапии определять количество лимфоцитов CD4 дважды (клинические стандарты DHHS 2008 года, www.aidsinfo.nih.gov/guidelines). Количество лимфоцитов CD4 следует определять каждые 3–6 месяцев. Если результат определения количества лимфоцитов не соответствует ожидаемому диапазону значений, исследование следует повторить.

- **Воспроизводимость результатов определения количества лимфоцитов CD4.** Как лечащим врачам, так и пациентам следует знать о вариабельности результатов определения количества лимфоцитов CD4, особенно в случаях, когда на основании показателей лимфоцитов CD4 принимаются важные клинические решения, например, решение о начале антиретровирусной терапии или назначении препаратов для профилактики оппортунистической инфекции. Например, если у пациента количество лимфоцитов CD4 составляет 200 мкл^{-1} , то 95% доверительный интервал составляет $118\text{--}337 \text{ мкл}^{-1}$ (*JAIDS* 1993; 6:537). Если результат определения количества лимфоцитов не соответствует ожидаемому диапазону значений, исследование следует повторить. Значимым считается изменение абсолютного количества лимфоцитов CD4 на 30% и изменение процентного содержания лимфоцитов CD4 на 3% (клинические стандарты DHHS 2008 года, www.aidsinfo.nih.gov/guidelines).

- **Факторы, влияющие на результат определения количества лимфоцитов CD4.** К факторам, влияющим на результат определения количества лимфоцитов CD4, относятся аналитические вариации, сезонные и суточные колебания, некоторые интеркуррентные заболевания и кортикостероидная терапия. Значимые аналитические вариации обуславливают широкий диапазон нормальных значений (обычно $500\text{--}1400 \text{ мкл}^{-1}$). Объясняется это тем, что для вычисления абсолютного количества лимфоцитов CD4 необходимо определить три параметра: общее количество лейкоцитов, процентное содержание лимфоцитов и процентное содержание лимфоцитов CD4. Кроме того, количество лимфоцитов CD4 зависит от времени года (*Clin Exp Immunol* 1991; 86:349) и времени суток: минимальный уровень наблюдается в 12:30, а максимальный — в 20:30 (*JAIDS* 1990; 3:144), причем суточные колебания не вполне соответствуют циркадным ритмам уровня кортикостероидов. Умеренное снижение количества лимфоцитов CD4 отмечается при некоторых острых инфекциях и после «больших» хирургических вмешательств. Значительные изменения количества лимфоцитов CD4 может вызывать кортикостероидная терапия: введение стероидов в высоких дозах приводило к падению количества лимфоцитов CD4 с 900 мкл^{-1} до 300 мкл^{-1} и ниже; на фоне постоянного приема стероидов снижение количества лимфоцитов CD4 обычно менее выражено (*Clin Immunol Immunopathol* 1983; 28:101). Резкое снижение количества лимфоцитов CD4 наблюдается на фоне лечения интерфероном. Заболевания и состояния, для которых характерно низкое количество лимфоцитов CD4, включают синдром Шегрена, саркоидоз, лучевую болезнь, атопический дерматит, коллагенозы и васкулиты, лимфому, состояние после пересадки костного мозга, терапию интерфероном и идиопатическую лимфопению CD4 (см. стр. 29). Резкие изменения количества лимфоцитов CD4, возможно, обусловлены перераспределением лейкоцитов между периферической кровью и костным мозгом, селезенкой и лимфоузлами (*Clin Exp Immunol* 1990; 80:460).

Обманчиво высокое количество лимфоцитов CD4 у ВИЧ-инфицированных может наблюдаться при сочетанной инфекции вирусом HTLV-1, а также после спленэктомии. Вирусы HTLV-1 и HTLV-2 очень близки, и большинство серологических методов не способны их различить, но повышение количества лимфоцитов CD4 происходит только на фоне инфекции вирусом HTLV-1. По результатам серологических исследований, проведенных в Соединенных Штатах, распространенность HTLV-1/2-инфекции составляет 7–12% среди ПИН и 2–10% среди работников коммерческого секса (*NEJM* 1990; 326:375; *JAMA* 1990; 263:60; *STD* 2000; 27:87); в обеих группах в 80–90% случаев возбудителем инфекции служит HTLV-2. Высокие показатели распространенности сочетанной инфекции ВИЧ и HTLV-1 были зарегистрированы в Бразилии (*JAMA* 1994; 271:353), в Перу и на Гаити (*J Clin Microbiol* 1995; 33:1735). При сравнении данных пациентов с сочетанной инфекцией ВИЧ и HTLV-1 было обнаружено, что у них показатели количества лимфоцитов CD4 на 80–180% превышают показатели количества лимфоцитов CD4, полученные у ВИЧ-инфицированных пациентов с близким уровнем иммуносупрессии, составивших контрольную группу (*JAMA* 1994; 271:353). Некоторые наблюдения позволяют предположить, что сочетанная инфекция вирусом HTLV-2 оказывает благоприятный эффект на естественное течение ВИЧ-1-инфекции (*AIDS Rev* 2007; 9:140). После спленэктомии количество лимфоцитов CD4 быстро возрастает до определенного стабильного уровня; уровень иммунокомпетентности у таких пациентов более точно отражает процентное содержание

лимфоцитов CD4 (*CID* 1995; 20:768; *Arch Surg* 1998; 133:25). Пол, возраст (у взрослых), категория риска, психическое и физическое перенапряжение, беременность практически не влияют на количество лимфоцитов CD4 (*Ann Intern Med* 1993; 119:55).

- **Процентное содержание лимфоцитов CD4.** Иногда клиницисты предпочитают определять процентное содержание лимфоцитов CD4, поскольку этот показатель менее вариабелен (*JAIDS* 1989; 2:114). В лабораториях ACTG (лабораториях Группы медицинских учреждений, проводящей клинические исследования в области лечения СПИДа) результаты определения процентного содержания лимфоцитов CD4 в одном и том же образце крови различались на 18%, а результаты определения общего количества лимфоцитов CD4 — на 25% (*JID* 1994; 169:28). Анализ большого массива данных наблюдений показал, что количество лимфоцитов CD4 является самым надежным прогностическим показателем риска развития оппортунистических инфекций (*JAIDS* 2004; 36:1028). Проведенные позже анализы данных когортных исследований показали, что процентное содержание лимфоцитов CD4, возможно, позволяет точнее предсказать прогрессирование ВИЧ-инфекции у пациентов с абсолютным количеством лимфоцитов >350 мкл⁻¹ (*JID* 2005; 192:950) и определить момент начала ВААПТ (*JID* 2007; 195:425). Если же количество лимфоцитов CD4 ниже 350 мкл⁻¹, предпочтительнее определять абсолютное количество лимфоцитов CD4 (*JID* 2005; 192:945; *JAIDS* 2004; 36:1028). Соответствие показателей процентного и абсолютного содержания лимфоцитов CD4 представлено в таблице ниже.

Таблица 2.6. Примерное соответствие показателей общего и процентного содержания лимфоцитов CD4

Количество лимфоцитов CD4	Процентное содержание лимфоцитов CD4
>500 мкл ⁻¹	$>29\%$
200–500 мкл ⁻¹	14–28%
<200 мкл ⁻¹	$<14\%$

- **Ответ на ВААПТ.** Обычно через 4–8 недель после снижения вирусной нагрузки на фоне ВААПТ количество лимфоцитов CD4 увеличивается на ≥ 50 мкл⁻¹; последующий прирост зависит от времени, исходного количества лимфоцитов CD4 и степени подавления вирусной нагрузки. На фоне хорошего вирусологического ответа прирост количества лимфоцитов CD4 за первый год ВААПТ в среднем составляет 100–150 мкл⁻¹, с третьего по пятый год терапии прирост составляет в среднем 20–50 мкл⁻¹/год, а после пятого года терапии количество лимфоцитов CD4 увеличивается в среднем на 20–30 мкл⁻¹/год (*Lancet* 2007; 370:407). В нескольких когортных исследованиях наблюдалось стабильное постепенное увеличение количества лимфоцитов CD4 до нормальных значений (*Lancet* 2007; 370:366). Однако результаты других исследований показали, что только у пациентов с исходным количеством лимфоцитов CD4 >350 мкл⁻¹ через 6 лет ВААПТ достигается почти нормальный уровень лимфоцитов CD4 при условии хорошей супрессии вируса (*CID* 2008; 46:149) в течение 4–5 лет, что указывает на ограниченность способности иммунной системы к восстановлению (*CID* 2007; 44:441; *AIDS* 2003; 17:1707; *AIDS* 2003; 13:963). Иммунологический ответ (прирост лимфоцитов CD4) в целом коррелирует со степенью вирусологического контроля, но тем не менее, при вирусной нагрузке $<10\,000$ копий/мл в большинстве случаев отмечается стабильность или даже умеренный прирост количества лимфоцитов CD4, что обеспечивает защиту от оппортунистических инфекций (*NEJM* 2003; 2175; *JAIDS* 2005; 40:404; *Lancet* 2007; 369:1169; *Lancet* 2006; 368:466). При хорошем вирусологическом ответе на терапию иммунологический ответ (прирост лимфоцитов CD4) может быть отсрочен без очевидных причин (*JAMA* 2002; 288:222). Прирост количества лимфоцитов CD4, как правило, коррелирует со степенью подавления вирусной нагрузки, однако нередко наблюдается наруше-

ние этой зависимости в обоих направлениях (*Antivir Ther* 1999; 4(Suppl 3):7; *JID* 2001; 183:1328). Тем не менее, результаты популяционных исследований показывают, что наиболее важным фактором, определяющим иммунологический ответ на ВААРТ, служит длительность эффективного подавления вирусной нагрузки (*JID* 2004; 190:148). После прекращения АРТ количество лимфоцитов CD4 обычно быстро снижается; через 3–4 месяца оно может уменьшиться на 100–150 мкл⁻¹ (*CID* 2001; 33:344; *CID* 2001; 32:1231; *NEJM* 2003; 349:837).

- **Количество лимфоцитов CD4 как косвенный показатель вирусологической неэффективности лечения.** ВОЗ рекомендует использовать снижение количества лимфоцитов CD4 в качестве замены вирусной нагрузки для выявления вирусологической неэффективности терапии. Однако эффективность этой рекомендации не была доказана по следующим причинам: 1) для результата измерения количества лимфоцитов CD4 характерна значительная вариабельность (30% для 95% ДИ); 2) количество лимфоцитов CD4 обычно определяется через каждые 6 месяцев, т. е. недостаточно часто; 3) по данным крупных исследований схем «спасения» (TORO, RESIST, POWER, BENCHMRK, TITAN и т. д.), при вирусологической неэффективности терапии количество лимфоцитов CD4 часто не изменяется или даже медленно нарастает. В некоторых случаях записи в фармацевтическом журнале о выдаче антиретровирусных препаратов позволяли более точно предсказать вирусологическую неудачу (*PLoS Med* 2008; 5:e109).
- **Общее количество лимфоцитов.** В условиях ограниченных ресурсов иногда вместо количества лимфоцитов CD4 определяют общее количество лимфоцитов (*JAMA* 1993; 269:622; *Am J Med Sci* 1992; 304:79). ВОЗ рекомендует рассматривать снижение общего количества лимфоцитов до <1200 мкл⁻¹ в сочетании с клиническими симптомами ВИЧ-инфекции как показание к началу АРТ, аналогичное снижению лимфоцитов CD4 до <200 мкл⁻¹ (*Увеличение масштабов применения антиретровирусной терапии в условиях ограниченных ресурсов*, ВОЗ, 2006). Если общее количество лимфоцитов в пределах 1200–2000 мкл⁻¹, то снижение количества лимфоцитов CD4 до <200 мкл⁻¹ следует предположить у пациентов с низким уровнем гемоглобина (≤120 г/л) (*AIDS* 2003; 17:1311). Однако, согласно данным, полученным из Кении, установленная пороговая величина, равная 1200 мкл⁻¹, не позволяет выявить всех пациентов с далеко зашедшей стадией ВИЧ-инфекции. Для повышения эффективности выявления пациентов с количеством лимфоцитов CD4 ≤200 мкл⁻¹ рекомендуется увеличить пороговую величину косвенного показателя (общего количества лимфоцитов) до 1900 мкл⁻¹ (*E. Afr Med J* 2007; 84:466). На недостаточную корреляцию указывают также другие исследователи (*JAIDS* 2007; 46:338; *JAIDS Hum Retroviral* 2007; 19:238).
- **Изменения субпопуляции лимфоцитов CD4.** Прогрессирующий иммунодефицит при ВИЧ-инфекции сопровождается как качественными, так и количественными изменениями субпопуляции лимфоцитов CD4. Выделяют две основных разновидности лимфоцитов CD4 — клетки, не участвовавшие ранее в иммунном ответе («наивные» или «девственные»), и клетки памяти. У новорожденного все лимфоциты CD4 не участвовали ранее в иммунном ответе; они экспрессируют рецептор CD45RA+. Т-лимфоциты CD4, активированные контактом с антигенами, превращаются в клетки памяти (CD45RA-). Это лимфоциты, отвечающие за специфический иммунный ответ на большинство возбудителей оппортунистических инфекций, таких как *P. jiroveci*, цитомегаловирус и *Toxoplasma gondii*. Именно снижение количества этих клеток приводит к неспособности организма реагировать на повторное попадание антигена в организм — нарушение функции иммунной системы, которое проявляется уже на ранних стадиях ВИЧ-инфекции. Исследования показали, что у ВИЧ-инфицированных пациентов происходит преимущественное снижение количества клеток, не участвовавших ранее в иммунном ответе. Можно выделить три стадии восстановления субпопуляции лимфоцитов CD4 на фоне ВААРТ. Первоначальное повышение количества лимфоцитов CD4 обусловлено в основном выходом лимфоцитов CD4 из лимфатической системы в кровь. Вторая стадия характеризуется притоком клеток памяти CD4 со сниженной способностью к активации и улучшенным иммунным ответом при повторном контакте с антигеном. На третьей стадии, не менее чем через 12 недель ВААРТ, происходит повышение уровня наивных клеток (*Nat Med* 1997; 5:533; *Science* 1997; 277:112). Через 6 месяцев АРТ восстанавливаются все разновидности лимфоцитов CD4. О восстановлении функции клеточного иммунитета можно

судить по отсутствию обострений некоторых хронических инфекций, таких как криптоспоридиоз, микроспоридиоз и контагиозный моллюск, а также на основании возможности отмены поддерживающей терапии при диссеминированной МАК-инфекции и цитомегаловирусной инфекции и возможности безопасной отмены первичной профилактики пневмоцистной пневмонии и МАК-инфекции. Тем не менее, у некоторых пациентов, несмотря на восстановление количества клеток иммунной системы, наблюдается недостаточность специфического цитотоксического иммунного ответа, поэтому у них могут наблюдаться рецидивы пневмоцистной пневмонии или ЦМВ ретинита, хотя количество лимфоцитов CD4 превышает 300 мкл^{-1} (*JID* 2001; 183:1285).

- **Идиопатическая лимфоцитопения CD4.** Идиопатическая лимфоцитопения CD4 — это синдром, который характеризуется низким количеством лимфоцитов CD4 при отсутствии ВИЧ-инфекции или каких-либо других состояний, которые могли бы быть его причиной. Диагностические критерии: 1) количество лимфоцитов CD4 меньше 300 мкл^{-1} или процентное содержание лимфоцитов CD4 меньше 20% по результатам двух и более измерений; 2) отрицательный результат лабораторного тестирования на ВИЧ; 3) отсутствие других возможных причин лимфоцитопении CD4, включая синдром Шегрена, саркоидоз, лучевую болезнь, атопический дерматит, системные заболевания соединительной ткани и васкулиты, прием кортикостероидов и лимфому (*NEJM* 1993; 328:373). Преходящие необъяснимые снижения количества лимфоцитов CD4 наблюдаются и у здоровых людей (*Chest* 1994; 105:1335; *Eur J Med* 1993; 2:509; *Am J Med Sci* 1996; 312:240). Результаты одного исследования, в ходе которого было обследовано 430 ВИЧ-отрицательных пациентов с туберкулезом, показали, что у 62 (14%) была идиопатическая лимфоцитопения CD4 (*JID* 2000; 41:167). CDC получают сообщения о выявлении примерно одного случая идиопатической лимфоцитопении CD4 в месяц (со слов врача Т. Дж. Спайры). Было выдвинуто предположение, что персистирующая лимфоцитопения CD4 обусловлена уменьшением количества стволовых клеток-предшественников (*Int Arch Allergy Immunol* 2005; 136:379). Выводы, сделанные на основании наблюдения пациентов с идиопатической лимфоцитопенией CD4, таковы: 1) у них отсутствуют факторы риска ВИЧ-инфекции; 2) нет доказательств наличия возбудителя инфекции на основании кластерного или эпидемического анализа; 3) при одинаковом количестве лимфоцитов CD4 у них меньше оппортунистических инфекций, чем у больных СПИДом; 4) из оппортунистических инфекций у таких пациентов чаще всего развиваются криптококкоз, опоясывающий лишай, контагиозный моллюск и гистоплазмоз; для них нетипичны инфекции, вызываемые *P. jiroveci*, *Candida*, ВГЧ-8 (саркома Капоши); 5) количество лимфоцитов CD4, как правило, стабильно; 6) прогноз относительно благоприятный. Результаты анализа медицинских карт 53 пациентов с идиопатической лимфоцитопенией CD4 показали, что средний возраст больных составил 41 год, медиана количества лимфоцитов CD4 — 82 мкл^{-1} , чаще всего у них развивался криптококковый менингит, и был зарегистрирован только один случай пневмоцистной пневмонии (*Medicine* 2007; 86:78). Тем не менее, некоторые специалисты рекомендуют проводить профилактику пневмоцистной пневмонии при стабильно низком уровне лимфоцитов CD4 ($<200 \text{ мкл}^{-1}$). Предпринимаются попытки лечения идиопатической лимфоцитопении CD4 интерлейкином-2 и гамма-интерфероном, однако пока накоплено недостаточно данных о результатах такого лечения (*Lancet* 1992; 340:273; *NEJM* 1993; 328:373; *NEJM* 1993; 328:380; *NEJM* 1993; 328:386; *NEJM* 1993; 328:393; *Clin Exp Immunol* 1999; 116:322; *CID* 2000; 3:e20; *CID* 2001; 33:e125; *CID* 2006; 42:e53). О случаях диагностики этого синдрома следует сообщать в местные органы здравоохранения (или органы здравоохранения штата), а не непосредственно в CDC, как предписывалось ранее.

Исследования вируса на резистентность

По результатам исследований, проведенных в Северной Америке и Европе в 2000–2007 годах, распространенность вирусов с хотя бы одной основной мутацией резистентности среди недавно инфицированных пациентов, не получавших АРВ препараты, составляет 6–19% (см. стр. 34). Кроме того, согласно результатам продольных (лонгитудинальных) исследований, штаммы с мутациями резистентности, переданные при инфицировании, сохраняются в организме в течение более длительного

времени, чем появившиеся на фоне терапии (*CID* 2005; 41:233; *Antivir Ther* 2006; 11:173). Эти наблюдения стали основанием для текущей рекомендации проводить тестирование вируса на резистентность перед началом АРТ и подбирать схему АРТ с учетом результатов этого исследования (*JAMA* 2006; 296:827; клинические стандарты DHHS от 3 ноября 2008 года, www.aidsinfo.nih.gov/guidelines). Проводить тестирование вируса на резистентность рекомендуется также при смене схемы АРТ из-за вирусологической неэффективности лечения. На сегодняшний день можно выделить следующие недостатки методов исследования вирусной резистентности:

- Тесты на резистентность выявляют только штаммы вируса, количественно преобладающие на момент исследования. Резистентные штаммы, составляющие менее 20% от общей популяции вируса в крови, и штаммы, которые сохраняются в «скрытых резервуарах» (ЦНС, латентные клетки CD4, лимфоидные клетки ЖКТ, половые пути и т. д.), не обнаруживаются.
- Для проведения тестов на резистентность нужна достаточная вирусная нагрузка, не менее 500–1000 копий/мл. В настоящее время разработаны методы клонального анализа, позволяющие выявить мутации резистентности у недоминирующих штаммов, составляющих всего 0,1% от общего пула вирусов, однако такие исследования требуют больших затрат времени и денег и в настоящее время не применяются в клинической практике (*JAIDS* 2005; 40:24; *JID* 2005; 192:1).
- Результаты генотипирования бывает трудно интерпретировать, особенно при обнаружении множественных мутаций резистентности.
- Результаты фенотипирования интерпретировать легче, поскольку они похожи на результаты исследований чувствительности бактерий к антибактериальным препаратам. Однако пороговые коэффициенты, устанавливаемые на основании клинических данных, получены не для всех антиретровирусных препаратов. Кроме того, фенотипирование обладает меньшей чувствительностью в отношении формирующейся резистентности, когда в крови присутствует смесь из штаммов дикого типа и мутировавших штаммов, которые могут быть выявлены методами генотипирования.

Учитывая вышеперечисленные ограничения методов исследования вирусной резистентности, можно сделать следующие выводы:

- **Тесты на резистентность надежнее всего выявляют антиретровирусные препараты, к которым вирус устойчив (и которые не следует назначать),** нежели препараты, которые с наибольшей вероятностью активны в отношении исследуемого штамма вируса.
- **Результаты тестов на резистентность наиболее точны в отношении антиретровирусных препаратов, которые пациент либо принимал на момент тестирования, либо прекратил принимать незадолго до тестирования,** поскольку после отмены АРТ со временем снова появляется и размножается вирус дикого типа. По-видимому, от момента прекращения АРТ до восстановления популяции вируса дикого типа проходит не менее 4 недель, хотя этот период зависит от того, какие препараты входили в схему АРТ. Сообщалось об исчезновении мутации 184V через 20 дней после прекращения терапии (*JID* 2005; 192:1537).
- **Интерпретация результатов тестов на резистентность у пациентов, ранее принимавших антиретровирусные препараты, весьма сложна** по причине невозможности обнаружения штаммов, которые сохраняются в «резервуарах» или составляют меньшинство в общей популяции вируса в организме пациента. Поэтому при выборе схемы лечения очень важно учитывать, какие АРВ препараты пациент принимал в прошлом, и каковы были результаты предыдущих тестов на резистентность. Справедливость этого утверждения была подтверждена результатами клинического испытания ACTG по протоколу 398, в котором у пациентов, в прошлом получавших эфавиренз, повторное назначение эфавиренза оказалось неэффективным вопреки результатам выполненных перед началом лечения тестов на резистентность, показавших чувствительность вируса к ННИОТ. При раздельном секвенировании геномов были обнаружены мутации резистентности у вирусов, составляющих меньшинство в общей популяции (*Antivir Ther* 2003; 8:S150).

- **Вирусная нагрузка для проведения теста на резистентность обычно должна быть не менее 500–1000 копий/мл.**
- **Генотипирование** предпочтительнее выполнять сразу после установки диагноза ВИЧ-инфекции (в рамках первичного обследования), в случае быстро возникшей вирусологической неэффективности АРТ, а также после прерывания АРТ. Фенотипирование и виртуальное фенотипирование, возможно, предпочтительнее в случаях множественной резистентности вируса, особенно при необходимости оценки чувствительности ВИЧ к ингибиторам протеазы. Относительные преимущества и недостатки применяющихся методов исследований вирусной резистентности обсуждаются ниже (см. «Методы исследования вирусной резистентности»).
- **Польза от исследования вируса на резистентность намного выше, если результаты интерпретируются специалистом.**

Показания к исследованию вируса на резистентность

Top HIV Med 2008; 16:62; www.iasusa.org/

ПОКАЗАНИЯ:

(Клинические стандарты DHHS по применению антиретровирусных препаратов у ВИЧ-1-инфицированных взрослых и подростков, 3 ноября 2008 г.; www.aidsinfo.nih.gov/guidelines/)

Большинство клинических стандартов содержат рекомендацию о проведении исследования вирусной резистентности при первичном обследовании и пациентам с хронической ВИЧ-инфекцией при неэффективности АРТ.

- Первичная ВИЧ-инфекция
- Хроническая ВИЧ-инфекция: сразу после установления диагноза ВИЧ-инфекции независимо от того, будет ли начата АРТ.
- Вирусологическая неэффективность АРТ
 - Отсутствие снижения вирусной нагрузки более чем на 0,5–0,7 log₁₀ копий/мл через 4 недели от начала АРТ.
 - Отсутствие снижения вирусной нагрузки более чем на 1 log₁₀ копий/мл через 8 недель от начала АРТ.
 - Вирусная нагрузка >1000 копий/мл через 16–24 недели от начала АРТ.
- **Оценка необходимости исследования вирусной резистентности при вирусологической неэффективности терапии.** Был проведен метаанализ научных статей и тезисов конференций, опубликованных вплоть до февраля 2001 года, в которых сравнивалась вирусологическая эффективность схем «спасения» (по результатам обследования через 3–6 месяцев после начала схемы), назначенных с учетом результатов теста на резистентность и назначенных без проведения теста на резистентность, то есть на усмотрение врача или в соответствии со стандартными рекомендациями (*HIV Clin Trials* 2002; 3:1). Было выявлено небольшое, но статистически значимое преимущество генотипирования. При этом польза от генотипирования была значительно выше, если результаты исследования оценивались специалистом. Не было выявлено никакого значимого преимущества схем, подобранных с учетом фенотипирования, по сравнению со схемами, подобранными в соответствии со стандартными рекомендациями. Однако следует отметить, что во время проведения этих исследований еще не были известны клинические пороговые величины резистентности вируса для многих препаратов (пороговые коэффициенты, которые определяются в ходе клинических исследований для каждого антиретровирусного препарата). Кроме того, в то время в распоряжении врачей было значительно меньше антиретровирусных препаратов, применимых для лечения пациентов, у которых вирус приобрел выраженную резистентность. По этой причине возможности выбора схемы «спасения» были ограничены и такие схемы были менее эффективны независимо от того, учитывались ли при выборе схемы результаты исследования резистентности вируса. Подавление репликации вируса через 6 месяцев после смены схемы лечения произошло у 168 (39%) из 432 пациентов, у которых терапия была изменена на основании совокупных результатов генотипирования, и у 115 (29%) из 400 пациентов, у которых терапия была изменена в соответствии со стандартными рекомендациями. Во многих исследованиях была доказана польза от выполнения тестов на резистентность вируса для выбора схемы АРТ на замену лишь для небольшого периода времени сразу после смены терапии (*AIDS* 2002; 16:369). Возможно, наиболее ценные результаты в отношении пользы тестирования на резистентность при неудаче лечения были получены благодаря исследованиям TORO-1 и TORO-2 (*NEJM* 2003; 348:2175 и 2293). В ходе этих исследований была показана сильная корреляция между количеством препаратов в получаемой пациентом схеме АРТ, к которым чувствителен вирус (по результатам генотипиро-

вания или фенотипирования), и вирусологическим ответом. Это наблюдение было подтверждено результатами многих исследований схем «спасения».

На сегодняшний день все тест-системы для исследования вирусной резистентности стандартизованы для ВИЧ подтипа В; возможности их применения для исследования штаммов ВИЧ других подтипов неизвестны или недостаточно стандартизованы (*Scand JID* 2003; 35[Suppl 106]:75; *J Med Virol* 2007; 80:1).

- **Первичная ВИЧ-инфекция.** Результаты исследований резистентности штаммов ВИЧ, выделенных от не получавших АРВ препараты пациентов с острой ВИЧ-инфекцией, значительно различаются в зависимости от периода времени и географии проведения исследования. В Соединенных Штатах распространенность резистентных штаммов резко возросла в конце 90-х годов, затем стабилизировалась. Самое крупное раннее исследование было проведено С. Литтлом (S. Little) и соавт., оно включало 377 жителей США с острой ВИЧ-инфекцией. Забор образцов биоматериала проводился с 1995 по 2000 год. Распространенность резистентных штаммов (хотя бы к одному препарату) по данным фенотипического анализа (IC_{50} для исследуемого штамма/ IC_{50} для вируса дикого типа >10) составила 3,4% среди образцов, взятых с 1995 по 1998 год, и 12,4% среди образцов, полученных с 1999 по 2000 год. Генотипический анализ выявленных резистентных штаммов показал, что в гене обратной транскриптазы наиболее часто наблюдались мутации резистентности в кодонах 103, 118, 184 и 215; наиболее распространенными мутациями резистентности в гене протеазы были мутации в кодонах 82 и 90 (*NEJM* 2002; 347:385). В течение пяти лет наблюдения в наибольшей степени увеличилась распространенность мутаций резистентности к ННИОТ — с 1,9% до 7,1%. Согласно результатам исследования, проведенного среди жителей Нью-Йорка, частота обнаружения резистентности к ННИОТ при первичном обследовании пациентов с острой ВИЧ-инфекцией возросла с 2,6% в 1995–98 годах до 13,4% в 2003–06 годах (*JAIDS* 2006; 41:439). В других публикациях сообщается об обнаружении резистентности вируса по крайней мере к одному классу препаратов у 12% недавно инфицированных лиц (*AIDS* 2007; 21:2223; *BMJ* 2005; 331:1368; *JID* 2005; 192:958; *JAIDS* 2005; 40:505). В Северной Америке и Европе этот показатель в целом стабилизировался или несколько снизился (см. таблицу 2.7).
- **Исследование резистентности вируса у пациентов с хронической ВИЧ-инфекцией при первичном обследовании.** Генотипирование вируса при первичном обследовании в настоящее время включено в стандарт медицинской помощи ВИЧ-инфицированным. Поскольку мутации, которые содержатся в передаваемых при заражении вирионах ВИЧ, сохраняются в течение длительного времени, исследование вируса на резистентность следует проводить сразу после установления диагноза независимо от срока заражения и начала АРТ (*JAIDS* 2006; 41:573; *JAIDS* 2004; 37:1665). Необходимо помнить, что исследование на резистентность может не выявить мутации, присущие малому количеству вирусов. Такая ситуация характерна для давно инфицированных пациентов, не получающих АРТ. Поэтому тесты на резистентность надежнее всего выявляют антиретровирусные препараты, которые не следует назначать. Для получения более полных данных первичного обследования необходимо исследовать резистентность «минорных» штаммов вируса, что технически возможно, но в обычной лабораторной практике недоступно из-за отсутствия в продаже соответствующего оборудования. Обычно рекомендуется повторить генотипирование вируса при необъяснимой ранней вирусологической неэффективности терапии (т. е. при отсутствии снижения вирусологической нагрузки ниже установленных пороговых величин через 2–8 недель от начала ВААРТ).

Таблица 2.7. Результаты проведения тестов на резистентность ВИЧ пациентам с острой ВИЧ-инфекцией или недавно инфицированным

Источник	Годы	N	Любые мутации	НИОТ	ННИОТ	ИП
СРСРА-US ¹	1999–2001	491	11,6%	7,8%	3,0%	0,7%
Европейская комиссия ²	2002–2003	1083	9,1%	5,4%	2,6%	3,0%
Канада ³	2000–2001	494	6,1%	3,1%	1,2%	1,2%
10 североамериканских городов ⁴	1995–2001	377	11,6%	7,8%	3,0%	0,7%
Великобритания ⁵	2002–2003	171	19,2%	12,4%	8,1%	6,6%
Исследование CDC ⁶	2003–2006	3130	10,4%	3,6%	6,9%	2,4%

1. *CID* 2005; 40:468

2. Wensing, A. XVI Международная конференция по СПИДу, август 2006 года, тезисы TUAB 0101

3. *JAIDS* 2006; 42:86

4. *NEJM* 2002; 347:385

5. *BMJ* 2005; 331:1368

6. *Topics HIV Med* 2007; 15:150

Методы исследования вирусной резистентности

Существует два метода исследования вирусной резистентности: генотипирование и фенотипирование. Сравнительные характеристики этих методов приведены в таблице 2.8 (*J Antimicrob Chemother* 2004; 53:555; *Top HIV Med* 2008; 16:89).

ГЕНОТИПИРОВАНИЕ. Исследование генотипа вируса выявляет мутации, лежащие в основе фенотипической резистентности. Тестирование можно проводить с помощью готовых диагностических наборов (тест-систем) или полностью силами лаборатории («домашние наработки»). При проведении генотипирования одинаковых образцов с помощью двух готовых тест-систем в одной и той же лаборатории результаты совпадали в 98% случаев (*Antivir Ther* 2000; 5 suppl 4:60; *Antivir Ther* 2000; suppl 3:53). По результатам другого исследования, частота ложноположительных результатов составила 0,3%, а ложноотрицательных — 6,4% (*Antivir Ther* 2001; 6 suppl 1:1). Методики генотипирования значительно отличаются по стоимости, количеству выявляемых мутаций, форме представления результатов и методике их интерпретации. Генотипирование включает следующие этапы: 1) амплификацию гена обратной транскриптазы (ОТ) и гена протеазы (Pr) методом ОТ-ПЦР; 2) секвенирование ампликонов ДНК, полученных от доминантных штаммов ВИЧ (выявляются только те мутации, которые есть у более 20% вирионов, присутствующих в плазме); 3) регистрацию мутаций для каждого гена с использованием стандарта «буква-число-буква», в котором первая буква означает аминокислоту, соответствующую данному кодону у вируса дикого типа, число — это номер кодона, а последняя буква — аминокислота, которая соответствует мутировавшему кодону. Таким образом, мутация гена обратной транскриптазы K103N означает, что последовательность нуклеотидов в кодоне 103 после мутации соответствует не лизину (К), как у вируса дикого типа, а аспарагину (N). В таблице 2.9 приведены буквенные коды для всех аминокислот, используемые для описания мутаций при генотипировании. Для составления заключений по результатам генотипирования используют списки известных мутаций резистентности или компьютерные алгоритмы, основанные на наборах правил. Обновленная информация о резистентности ВИЧ и тестах на резистентность ВИЧ размещается на сайтах <http://www.iasusa.org> и <http://www.hivdb.stanford.edu/>. Сводная информация о мутациях резистентности ВИЧ приведена в таблицах 2.10–2.13. Сейчас на рынке появились тест-системы для оценки резистентности вируса к ингибитору слияния (энфувиртиду) методом генотипирования.

ФЕНОТИПИРОВАНИЕ. При исследовании фенотипа вируса оценивается способность ВИЧ к репликации при различных концентрациях лекарственных препаратов. Услуги по фенотипированию предлагают три коммерческие сети лабораторий; при

сравнении результатов исследования одинаковых образцов, проведенных этими лабораториями, был установлен хороший уровень совпадения (конкордантности) результатов (*Antivir Ther* 2001; 6 suppl 1:129; *Antivir Ther* 2000; 5 suppl 3:49). При фенотипировании гены обратной транскриптазы или протеазы, полученные путем амплификации из штамма ВИЧ, выделенного из крови пациента, встраивают в лабораторный штамм ВИЧ путем клонирования или рекомбинации. Далее оценивается скорость репликации полученного штамма вируса при разных концентрациях лекарственных препаратов и сравнивается со скоростью репликации вируса дикого типа (контроль). Эта методика похожа на классическое исследование чувствительности микроорганизмов *in vitro*, когда микроорганизмы выращивают на средах, содержащих различные концентрации антимикробных препаратов. Чувствительность вируса к препарату оценивают по отношению IC_{50} (концентрации препарата, которая подавляет репликацию вируса на 50%) исследуемого штамма к IC_{50} контрольного штамма (вируса дикого типа). Раньше о резистентности судили исходя из вариабельности показателей чувствительности штамма дикого типа при различных исследованиях, но в настоящее время для интерпретации применяются либо биологические пороговые коэффициенты, основанные на нормальном распределении вируса дикого типа у пациентов, не получавших АРТ, либо (для большинства препаратов) клинические пороговые коэффициенты, рассчитанные на основании данных клинических исследований (см. таблицу 2.14 на стр. 46).

ВИРТУАЛЬНОЕ ФЕНОТИПИРОВАНИЕ. В основе анализа *VircoTYPE* (Virco) лежит методика Virtual Phenotype («Виртуальное фенотипирование»), которая позволяет на основании результатов генотипирования вируса предсказать его возможные фенотипические свойства. Для предсказания фенотипа вируса применяются алгоритмы, разработанные на основании крупной базы данных, в которой сопоставлены результаты генотипирования и фенотипирования множества образцов.

ОТНОСИТЕЛЬНЫЕ ПРЕИМУЩЕСТВА КАЖДОГО МЕТОДА. Генотипирование предпочтительнее проводить при первичном осмотре сразу после установления диагноза (или перед началом АРТ), в случаях рано возникшей неэффективности первых схем АРТ, когда еще не ожидается обнаружение множественных мутаций, а также после прерывания АРТ, поскольку в случаях ранней неэффективности терапии генотипы вирусов легче интерпретировать, кроме того, генотипирование обладает большей чувствительностью в отношении обнаружения мутантных штаммов в смешанной популяции вируса, содержащей значительное количество ВИЧ дикого типа, которая может присутствовать в крови пациентов, ранее не получавших или прервавших антиретровирусную терапию. Кроме того, по данным клинических исследований, схемы АРТ, назначенные с учетом результатов генотипирования, превосходили по эффективности схемы АРТ, назначенные в соответствии со стандартными рекомендациями (GART [*AIDS* 2000; 14:F83], VIRADAPT [*Lancet* 1999; 353:2195]; HAVANA [*AIDS* 2002; 16:209]), а также схемы АРТ, назначенные с учетом результатов фенотипирования (REALVIRFEN [*Antivir Ther* 2003; 8:577]; NARVAL [*Antivir Ther* 2003; 8:427]) в перечисленных клинических ситуациях. Генотипирование — более дешевый метод, и, по-видимому, его применение в случаях вирусологической неэффективности первой или второй схемы АРТ экономически оправдано (*Ann Intern Med* 2001; 134:440; *JAIDS* 2000; 24:227). Пациентам с множественной резистентностью вируса к АРВ препаратам после вирусологической неэффективности нескольких схем терапии, по-видимому, предпочтительнее проводить фенотипирование вируса, в том числе в качестве дополнения к результатам генотипирования (клинические исследования CERT [*CID* 2004; 38:723] и TORO [*NEJM* 2003; 348:2175]). При фенотипировании получают количественные показатели, что дает возможность сравнивать уровни чувствительности и устойчивости вируса. Фенотипирование в полной мере учитывает результат взаимного влияния мутаций друг на друга и, возможно, его предпочтительнее использовать для оценки чувствительности вируса к новым препаратам, для которых еще не установлены все нуклеотидные последовательности вируса, коррелирующие с резистентностью. В серии исследований POWER фенотипическая чувствительность вируса к дарунавиру оказалась лучшим предиктором ответа на терапию (*Antiviral Ther* 2006; 11:S83).

Таблица 2.8. Сравнительная характеристика генотипирования и фенотипирования

Генотипирование	
Преимущества	Недостатки
<ul style="list-style-type: none"> • Относительно низкая стоимость (300–480 долл. за тест) • Результаты готовы уже через 1–2 недели • Метод достаточно стандартизован • Хорошая воспроизводимость результатов • Возможность виртуального фенотипирования* • Метод более чувствителен в отношении формирующейся или исчезающей резистентности (при наличии смешанной популяции вируса) • В ходе сравнительных исследований было установлено преимущество схем АРТ, подобранных с учетом генотипирования, пациентам с вирусологической неэффективностью первой или второй схемы терапии 	<ul style="list-style-type: none"> • Выявляет резистентность только у преобладающих штаммов (>20%) • Для интерпретации результатов требуется специальная подготовка или применение алгоритмов, которые различаются по прогностической точности в отношении чувствительности вируса • Алгоритмы могут быть неполными, особенно для новых препаратов • Для проведения исследования вирусная нагрузка должна превышать 500–1000 копий/мл • Ограниченные данные по не-В-подтипам ВИЧ
Фенотипирование	
<ul style="list-style-type: none"> • Интерпретировать результаты проще и привычнее • Оценивается суммарный эффект мутаций, в том числе обусловленный их взаимодействиями • Не нужно знать, какие мутации обеспечивают резистентность (преимущество при выявлении резистентности к новым препаратам) • Хорошая воспроизводимость результатов • Превосходит генотипирование при наличии множественных мутаций • Дает количественную оценку чувствительности к препаратам 	<ul style="list-style-type: none"> • Высокая стоимость (обычно 800–1000 долл.) Возмещение расходов по медицинской страховке может быть ограничено • Для получения результатов требуется больше времени, чем при проведении генотипирования • Пороговые коэффициенты чувствительности, определяемые на основании результатов клинических исследований, установлены не для всех препаратов • Выявляет резистентность только у преобладающих штаммов (>20%) • Для проведения исследования вирусная нагрузка должна превышать 500–1000 копий/мл

* *Виртуальное фенотипирование* — быстрый, простой и, по сравнению с обычным фенотипированием, более дешевый метод; основной недостаток его состоит в том, что точность предсказания фенотипа зависит от точности применяющихся алгоритмов, которые разрабатываются на основании данных, накопленных в базе.

Таблица 2.9. Буквенные обозначения аминокислот*

A	Аланин	I	Изолейцин	R	Аргинин
C	Цитозин	K	Лизин	S	Серин
D	Аспарагиновая кислота	L	Лейцин	T	Треонин
E	Глутаминовая кислота	M	Метионин	V	Валин
F	Фенилаланин	N	Аспарагин	W	Триптофан
G	Глицин	P	Пролин	Y	Тирозин
H	Гистидин	Q	Глутамин		

* Однобуквенные коды, используемые для описания генотипов.

Таблица 2.10. Мутации резистентности (данные IAS-USA, с изменениями) (Top HIV Med 2008; 16:62). Обновленную информацию см. на сайте Американского отделения Международного общества борьбы со СПИДом (<http://www.iasusa.org>) и на сайте электронной базы данных мутаций резистентности ВИЧ к лекарственным препаратам Стэнфордского университета (<http://hivdb.stanford.edu>)

Препарат	Мутации*	Примечания
Нуклеозидные и нуклеотидные ингибиторы обратной транскриптазы (НИОТ): мутации гена, кодирующего обратную транскриптазу		
AZT	41L, 67N, 70R, 210W, 215Y/F, 219Q/E	Мутации резистентности к аналогам тимидина (MPAT), которые снижают чувствительность вируса ко всем НИОТ. Наиболее распространенные MPAT — 41L, 210W и 215Y; они в наибольшей степени снижают чувствительность вируса к НИОТ. Мутации 67N, 70R и 219Q/E также снижают чувствительность вируса к НИОТ, но в меньшей степени. Мутация 184V повышает чувствительность вируса к AZT и снижает вероятность возникновения MPAT. Мутации 44D и 118I при наличии MPAT усиливают резистентность к НИОТ. MPAT нечасто сочетаются с мутацией 65R.
d4T	41L, 67N, 70R, 210W, 215Y/F, 219Q/E	В большинстве случаев резистентность к d4T обусловлена MPAT (см. AZT). Мутация 65R вызывает резистентность низкого уровня, иногда на фоне d4T происходит селекция штаммов с этой мутацией. Мутации 75T/M/A встречаются нечасто.
ЗТС	65R, 184V/I	Мутация 184V/I обеспечивает резистентность к ЗТС высокого уровня и одновременно повышает чувствительность вируса к AZT, d4T и TDF, однако при наличии MPAT эффект повышения чувствительности менее выражен. Эта мутация снижает чувствительность вируса к ddI и ABC, однако при наличии у вируса только мутации 184V/I это не приводит к клинически значимым последствиям. На фоне приема ЗТС не происходит селекции штаммов с мутациями 44D и 118I, но тем не менее эти мутации вызывают умеренную резистентность к ЗТС. ЗТС не способствует селекции 65R, однако эта мутация способна вызывать резистентность промежуточного уровня к ЗТС.
FTC	65R, 184V/I	Профиль резистентности идентичен или близок к ЗТС.
ddI	65R, 74V	MPAT обеспечивают резистентность к ddI; уровень резистентности зависит от количества MPAT и их сочетания. Мутации 74V и 65R как поодиночке, так и в сочетании с мутацией 184V/I вызывают резистентность к ddI и перекрестную резистентность к ABC (74V, 65R) и TDF (65R).
ABC	65R, 74V, 115F, 184V	Резистентность вызывают мутации 65R и 74V; уровень резистентности выше при наличии мутации 184V/I. На фоне приема ABC чаще происходит селекция 74V, чем 65R. Уровень резистентности, обусловленной MPAT, зависит от количества MPAT и их сочетания. Мутация 184V/I сама по себе не вызывает клинически значимой резистентности к ABC, но усугубляет снижение чувствительности, обусловленное MPAT или специфическими мутациями резистентности к ABC.

* Деление мутаций на первичные и вторичные для НИОТ и ННИОТ было отменено экспертным комитетом IAS-USA; такая классификация мутаций оставлена для ИП, но теперь мутации подразделяются на основные («большие») и второстепенные («малые»).

Таблица 2.10. Мутации резистентности (продолжение)

Препарат	Мутации*	Примечания
Нуклеозидные и нуклеотидные ингибиторы обратной транскриптазы (НИОТ): мутации гена, кодирующего обратную транскриптазу (продолжение)		
TDF	65R, 70E	Снижение чувствительности наблюдается при наличии мутации 65R или ≥ 3 МРАТ, включающих мутации 41L и 210W. Мутация 184V/I повышает чувствительность вируса к TDF, частично уменьшая влияние мутаций 65R или МРАТ. Мутация 70E, также снижающая чувствительность вируса к TDF, обнаруживается нечасто.
Полирезистентность к НИОТ — комплекс Q151M	151M плюс 62V, 75I, 77L, 116Y	Возникает нечасто на фоне приема схем АРТ, содержащих ЗТС или FTC. Может сочетаться с МРАТ. «Комплекс мутаций 151M» обеспечивает резистентность высокого уровня к AZT, d4T, ABC и ddI, резистентность промежуточного уровня к TDF и резистентность низкого уровня к ЗТС и FTC.
Полирезистентность к НИОТ — инсерция Т69	Инсерция 69	Возникает нечасто на фоне приема схем АРТ, содержащих ЗТС или FTC. Обычно сочетается с МРАТ, обеспечивая резистентность высокого уровня ко всем НИОТ, включая TDF.
Полирезистентность к НИОТ — множественные МРАТ	41L, 67N, 70R, 210W, 215Y/F, 219Q/E	Наиболее частая причина полирезистентности к нуклеозидным аналогам. Селекция МРАТ происходит только на фоне приема AZT и d4T. Мутации 44D и 118I дополнительно усиливают резистентность к НИОТ.
Ненуклеозидные ингибиторы обратной транскриптазы (ННИОТ): мутации гена, кодирующего обратную транскриптазу		
NVP	100I, 103N, 106A/M, 108I, 181C/I, 188C/L/H, 190A	При лечении невирапином (не в сочетании с зидовудином) чаще всего появляется мутация 181C; при лечении зидовудином и невирапином чаще всего возникает мутация 103N. Мутации 103N, 106M, 188L/C обеспечивают резистентность к NVP высокого уровня. Мутация 188H вызывает резистентность к NVP низкого уровня.
DLV	103N, 106M, 181C, 188L, 236L	Некоторые мутации резистентности к ННИОТ (190A/S, 225) снижают чувствительность вируса к NVP и EFV, но при этом вызывают повышение чувствительности к DLV; клиническое значение этого феномена неясно.
EFV	100I, 103N, 106M, 108I, 181C/I, 188L, 190S/A, 225H	На фоне лечения эфавирензом чаще всего закрепляется мутация 103N, которая вызывает резистентность к ННИОТ высокого уровня. Мутации 188L и 106M также обеспечивают резистентность к EFV высокого уровня. Хотя мутация 181C (и некоторые другие мутации резистентности к ННИОТ) обеспечивают фенотипическую резистентность к EFV низкого уровня, вирусологический ответ на применение EFV обычно плохой. Кроме того, необходимо помнить, что не преобладающие в популяции на момент исследования штаммы вируса могут обладать другими мутациями резистентности к ННИОТ.
ETR	181V/I, 101P >101I, 181C, 23L >138A, 179F >106I, 190S, 90I, 179D, 101E/H, 98G, 179T, 190A	Взвешенные коэффициенты резистентности: 3: 181V/I 2,5: 101P, 100I, 181C, 230L 1,5: 138A, 106I, 190S, 179F 1,0: 90I, 179D, 101E, 101H, 98G, 190A, 179T Неэффективность терапии: 0–2: 38%; 2,5–3,5: 52%; >4: 74%

* Деление мутаций на первичные и вторичные для НИОТ и ННИОТ было отменено экспертным комитетом IAS-USA; такая классификация мутаций оставлена для ИП, но теперь мутации подразделяются на основные («большие») и второстепенные («малые»).

Таблица 2.10. Мутации резистентности (продолжение)

Препарат	Основные («большие») мутации [†]	Второстепенные («малые») мутации [‡]	Примечания
Ингибиторы протеазы (ИП): мутации гена, кодирующего протеазу			
IDV и IDV/r	46I/L, 82A/F/T, 84V	10F/I/R/V, 20M/R, 24I, 32I, 36I, 54V, 71V/T, 73S/A, 76V, 77I, 90M	Для развития резистентности к не усиленному ритонавиром IDV (т. е. снижения чувствительности более чем в 4 раза по сравнению с вирусом дикого типа) требуется не менее 3 мутаций.
NFV	30N, 90M	10F/I, 36I, 46I/L, 71V/T, 77I, 82A/F/T/S, 84V, 88D/S	30N – самая распространенная мутация; она не вызывает перекрестной резистентности к ИП. У некоторых пациентов (особенно инфицированных не-B-подтипом ВИЧ) обнаруживается мутация 90M, которая обеспечивает перекрестную резистентность к ИП более высокого уровня.
SQV и SQV/r	48V, 90M	10I/R/V, 24I, 54L/V, 62V, 71V/T, 73S, 77I, 82A/F/T/S, 84V	На фоне приема не усиленного ритонавиром SQV обычно первой возникает мутация 90M, затем 48V. Мутация 48V обеспечивает резистентность только к саквинавиру, а мутация 90M вызывает перекрестную резистентность к ИП. У пациентов, ранее не получавших ИП, при применении усиленного ритонавиром саквинавира селекция штаммов с мутациями резистентности к ИП маловероятна.
FPV и FPV/r	50V, 84V	10F/I/R/V, 32I, 46I/L, 47V, 54L/V/M, 73S, 82A/F/T/S, 90M	Мутация 50V вызывает перекрестную резистентность к LPV. Мутации 50V, 84V, 32I, 54L/M и 47V снижают чувствительность вируса к DRV. Мутации 10V, 47V, 54M и 84V снижают чувствительность вируса к TPV. У пациентов, ранее не получавших ИП, при применении FPV/r селекция штаммов с мутациями резистентности к ИП маловероятна.
LPV/r	32I, 47V/A, 82A/F/T/S	10F/I/R/V, 20M/R/V, 24I, 33F, 46I/L, 50V, 53L, 54V/L/A/M/T/S, 63P, 71V/T, 73S, 76V, 84V, 90M	У большинства пациентов с вирусологической неэффективностью LPV/r-содержащей схемы АРТ, как первой ИП-содержащей схемы терапии, мутаций резистентности к ИП у вируса не обнаруживается. Мутация 47A обеспечивает резистентность к LPV промежуточного или высокого уровня.
TPV/r	33F, 82L/T, 84V	10V, 13V, 20M/R/V, 35G, 36I, 43T, 46L, 47V, 54A/M/V, 58E, 69K, 74P, 83D	Самый высокий вирусологический ответ наблюдается при наличии 0–1 мутации резистентности к TPV. При наличии 2–7 мутаций наблюдается промежуточный ответ. При наличии 8 мутаций и более вирусологический ответ на терапию минимален.
DRV/r	50V, 54M/L, 76V, 84V	11I, 32I, 33F, 47V, 50V, 54L/M, 74P, 76V, 84V, 89V	Уменьшение вирусологического ответа при увеличении количества мутаций резистентности к DRV; при наличии трех и более мутаций вирусологический ответ недостаточен.
ATV и ATV/r	50L, 84V, 88S	10I/F/V/C, 16E, 20R/M/I/T/V, 24I, 32I, 33I/F/V, 36I/L/V, 46I/L, 48V, 53L/Y, 54L/V/M/T/A, 60E, 62V, 64I/M/V, 71V/I/T/L, 73C/S/T/A, 82A/T/F/I, 85V, 90M, 93L/M	Мутация 50L не вызывает перекрестной резистентности к ИП; возможно, она даже способствует повышению чувствительности вируса к остальным ИП. Снижение противовирусного действия препарата <i>in vivo</i> происходит при наличии ≥3 мутаций из следующего перечня: 10F/V/I, 16E, 33F/I/V, 46I/L, 60E, 84V, 85V. У пациентов, ранее не получавших ИП, при применении ATV/r селекция штаммов с мутациями резистентности к ИП наблюдается редко. Согласно другому источнику, вирусологический ответ снижался до 75% при наличии двух мутаций или до 0% при наличии более трех мутаций из следующего перечня: 10V/I/C, 32I, 34Q, 46I/L, 53L, 54A/M/V, 82A/F/I/T, 184V.

[†] Основные («большие») мутации появляются первыми или уменьшают связывание лекарственных препаратов с ферментом или снижают репликативную способность вируса; они изменяют фенотипические резистентные свойства вируса.

[‡] Второстепенные («малые») мутации появляются позже и сами по себе существенно не влияют на фенотипическую резистентность.

Таблица 2.10. Мутации резистентности (продолжение)

Препарат	Мутации	Примечания
Ингибиторы слияния: мутации гена, кодирующего gp41		
ENF	36D/S, 37V, 38A/M/E, 39R, 40H, 42T, 43D	На чувствительность вируса к препарату могут влиять мутации в других участках генома, кодирующих белки оболочки вируса.
Антагонисты CCR5: мутации гена, кодирующего gp120		
MVC		Препарат активен только у пациентов, инфицированных исключительно R5-тропным вирусом. Мутации, изменяющие конфигурацию gp120 таким образом, что присоединение ВИЧ к R5-рецепторам становится возможным в присутствии MVC, снижают активность препарата, которая оценивается в максимальных процентах ингибирования (МПИ), а не с помощью стандартного показателя IC50. Профиль резистентности слишком сложен для изложения; частота возникновения мутаций неизвестна (<i>Antivir Ther</i> 2008; 13, Suppl 3:A98). Тест-систем для определения резистентности вируса методом генотипирования в продаже нет.
Ингибиторы интегразы: мутации гена, кодирующего интегразу		
RAL	148 H/K/R, 155 H	Вирусологический ответ зависит от сочетания мутаций резистентности: необходимо сочетание одной «большой» мутации (148H/K/R или 155H) и не менее одной «малой» мутации: 148H/K+140S, 138A, 140A, 138S. Сочетание мутаций 148H+140S встречается наиболее часто и вызывает наибольшую резистентность. Мутация 155H обычно сочетается с 74M, 92Q, 97A, 143 H; 92Q + 97A, 163K/R, 151I или 232N (<i>Antivir Ther</i> 2008; 13:881; <i>NEJM</i> 2008; 359:355; <i>HIV Med</i> 2008; 16:110; <i>Antivir Ther</i> 2007; 12:S10)

Таблица 2.11. Категории мутаций резистентности к нуклеозидным и нуклеотидным ингибиторам обратной транскриптазы

Категория мутаций	Мутация	Примечания
Мутации резистентности к аналогам тимидина (MPAT)	M41L, D67N/G, K70R, L210W, T215F/Y, K219E/Q/N	Селекция происходит на фоне приема аналогов тимидина (AZT, d4T), но эти мутации вызывают резистентность ко всем НИОТ. Комбинация мутаций 41L/210W/215Y встречается чаще у вируса подтипа В и вызывает резистентность к НИОТ более высокого уровня, чем комбинация 67N/70R/219. Обнаружение мутаций T215C/D/E/S/I/V, как правило, свидетельствует о процессе «обратного мутирования» штамма, исходно резистентного к НИОТ. Эти мутации сами по себе не вызывают резистентность, но указывают на наличие резистентного штамма в «резервуарах».
Дополнительные мутации	E44D, V118I	Усиливают резистентность к НИОТ в сочетании с несколькими MPAT.
Мутация резистентности к нуклеозидным аналогам, не относящаяся к MPAT	K65R	Селекция происходит на фоне приема TDF, ABC, ddI. Приводит к снижению чувствительности различной степени к этим препаратам и к d4T, 3TC и FTC, однако вызывает гиперчувствительность вируса к AZT. Редко возникает на фоне терапии, включающей AZT, а также в присутствии MPAT. Прием d4T также может способствовать селекции этой мутации. Селекция мутации на фоне приема TDF/FTC происходит реже, чем на фоне приема TDF/3TC.
Мутация резистентности к нуклеозидным аналогам, не относящаяся к MPAT	L74V	Селекция происходит на фоне приема ABC и ddI. (На фоне терапии, содержащей ABC/3TC, L74V встречается чаще, чем K65R.) Приводит к снижению чувствительности различной степени к ABC и ddI, однако вызывает гиперчувствительность вируса к AZT и TDF. Редко встречается на фоне терапии, включающей AZT, а также в сочетании с MPAT.
Мутация резистентности к 3TC/FTC	M184V/I	Селекция происходит на фоне приема 3TC и FTC. Вызывает резистентность высокого уровня к обоим препаратам и небольшое снижение чувствительности к ABC и ddI (клинически незначимое в отсутствие других мутаций резистентности). Повышает чувствительность вируса к AZT, d4T, TDF. Замедляет процесс селекции MPAT при приеме схем, содержащих аналоги тимидина.
Мутации полирезистентности к нуклеозидным аналогам	Инсерция T69	Селекция происходит на фоне приема аналогов тимидина; в эпоху ВААРТ встречается редко, особенно если схема терапии содержит 3TC или FTC. Вызывает резистентность высокого уровня ко всем НИОТ, включая TDF.
Мутации полирезистентности к нуклеозидным аналогам	Комплекс Q151M	Селекция происходит на фоне приема аналогов тимидина; в эпоху ВААРТ встречается редко, особенно если схема терапии содержит 3TC или FTC. Вызывает резистентность высокого уровня ко всем НИОТ в сочетании с мутациями V75I, F77L, F116Y. Противовирусная активность TDF может сохраняться.
Мутация резистентности к d4T	V75T/M/A	Селекция происходит при инкубации с d4T <i>in vitro</i> и приводит к снижению чувствительности к d4T, но редко возникает при клиническом применении d4T.
Мутация резистентности к ABC	Y115F	Селекция происходит на фоне приема ABC; мутация вызывает снижение чувствительности к ABC приблизительно в 3 раза.

Таблица 2.12. Мутации резистентности к нуклеозидным аналогам ингибиторов обратной транскриптазы (ННИОТ)

Мутация	Описание
V90I	Снижает чувствительность вируса к ETR в сочетании с другими мутациями резистентности к ETR.
A98G	Селекция происходит на фоне приема NVP (нечасто); приводит к минимальному снижению чувствительности к NVP. Снижает чувствительность вируса к ETR в сочетании с другими мутациями резистентности к ETR.
L100I	Обеспечивает резистентность промежуточного уровня к DLV, NVP и EFV. Обычно обнаруживается в сочетании с мутацией K103N, что усиливает резистентность к ННИОТ, особенно к EFV и DLV. Снижает чувствительность вируса к ETR в сочетании с другими мутациями резистентности к ETR. Повышает чувствительность вируса к AZT и, возможно, к d4T.
K101E/H/P	K101E закрепляется на фоне приема NVP и EFV (нечасто); приводит к появлению резистентности к промежуточного уровня к NVP и DLV и резистентности низкого уровня к EFV. K101P обеспечивает резистентность промежуточного уровня к DLV, NVP и EFV, но обычно появляется в сочетании с мутацией K103N, что вызывает уже резистентность высокого уровня. K101E/H/P снижает чувствительность вируса к ETR в сочетании с другими мутациями резистентности к ETR.
K103N/S/R	K103N часто закрепляется на фоне приема любых ННИОТ; обеспечивает резистентность высокого уровня к DLV, NVP и EFV. Не влияет на чувствительность вируса к ETR. K103S встречается реже; обеспечивает резистентность низкого уровня к DLV и EFV и резистентность промежуточного уровня к NVP. K103R — полиморфизм, минимально влияющий на чувствительность вируса к ННИОТ за исключением его сочетания с мутацией V179D.
V106M/A	V106M закрепляется на фоне приема NVP (часто встречается у ВИЧ подтипа С); обеспечивает резистентность высокого уровня к DLV, NVP и EFV. Не влияет на чувствительность вируса к ETR. V106A закрепляется на фоне приема NVP (нечасто); обеспечивает резистентность высокого уровня к NVP, промежуточного уровня к DLV и низкого уровня к EFV. V106I расценивается как полиморфизм, не вызывающий резистентности к ННИОТ; однако в серии исследований DUET была установлена связь между этой мутацией и снижением чувствительности вируса к ETR в сочетании с другими мутациями резистентности к ETR.
V108I	Селекция происходит на фоне приема NVP и EFV (нечасто); минимально снижает чувствительность вируса к DLV, NVP и EFV. Не влияет на чувствительность вируса к ETR.
E138A/G/K	Эти мутации включены в балльные системы оценки резистентности к ETR компаний Монограм [Mopogram] (A/G) и Тиботек [Tibotec] (A); снижают чувствительность вируса к ETR в сочетании с другими мутациями резистентности. E138K внесена в перечень мутаций резистентности к ETR на сайте Стэнфордского университета.
V179D/E/F/M/T	V179D : селекция происходит на фоне приема ННИОТ (нечасто), что приводит к появлению резистентности низкого уровня к DLV, NVP и EFV. Сочетание мутаций V179D + K103R обеспечивает более высокую резистентность. Снижает чувствительность вируса к ETR в сочетании с другими мутациями резистентности к ETR. 179E обеспечивает резистентность низкого уровня к DLV, NVP и EFV. 179F обеспечивает резистентность промежуточного уровня к NVP и DLV, резистентность низкого уровня к EFV и снижает чувствительность вируса к ETR в сочетании с другими мутациями резистентности к ETR. Обычно возникает в комбинации с мутацией Y181C, что приводит к возникновению резистентности высокого уровня к ETR. 179T снижает чувствительность вируса к ETR в сочетании с другими мутациями резистентности к ETR.
Y181C/I/V	Селекция происходит на фоне приема NVP и DLV, обеспечивая резистентность к обоим препаратам. Хотя эти мутации обеспечивают резистентность к EFV низкого уровня, клинический ответ на терапию EFV все же маловероятен, возможно, из-за отсутствия субпопуляций вируса с другими мутациями резистентности к EFV. Повышает чувствительность вируса к AZT и тенофовиру. Снижает чувствительность вируса к ETR в сочетании с другими мутациями резистентности к ETR. В отсутствие других мутаций приводит к снижению чувствительности вируса к ETR в 5–10 раз.

Таблица 2.12. Мутации резистентности к нуклеозидным аналогам ингибиторов обратной транскриптазы (ННИОТ) (продолжение)

Мутация	Описание
Y188L/H/C	<p>Y188L закрепляется на фоне приема NVP, DLV и EFV (нечасто), обеспечивая резистентность высокого уровня к NVP и EFV и резистентность низкого уровня к DLV. Снижает чувствительность вируса к ETR в сочетании с другими мутациями резистентности.</p> <p>Y188C закрепляется на фоне приема NVP; обеспечивая резистентность высокого уровня к NVP и резистентность низкого уровня к EFV и DLV.</p> <p>Y188H обеспечивает резистентность к ННИОТ низкого уровня.</p> <p>Влияние мутаций Y188H/C на чувствительность вируса к ETR не установлена.</p>
G190S/A/E/Q	<p>G190A закрепляется на фоне приема NVP и EFV; обеспечивая резистентность высокого уровня к NVP и промежуточного уровня к EFV. Снижает чувствительность вируса к ETR в сочетании с другими мутациями резистентности к ETR. Повышает чувствительность вируса к DLV (клиническое значение неизвестно).</p> <p>G190S вызывает резистентность высокого уровня к NVP и EFV и гиперчувствительность вируса к DLV. Снижает чувствительность вируса к ETR в сочетании с другими мутациями резистентности к ETR.</p> <p>G190E/Q обеспечивают резистентность высокого уровня к EFV и NVP и низкого уровня к DLV. Снижают чувствительность вируса к ETR в сочетании с другими мутациями резистентности к ETR.</p>
P225H	Обычно встречается в сочетании с мутацией K103N; усиливая резистентность к EFV. Снижает чувствительность вируса к ETR в сочетании с другими мутациями резистентности.
F227L	Иногда встречается в сочетании с V106A; усиливая резистентность к NVP.
M230L	Селекция происходит на фоне приема ННИОТ (нечасто); обеспечивает резистентность высокого уровня к DLV и NVP и резистентность промежуточного уровня к EFV. Снижает чувствительность вируса к ETR в сочетании с другими мутациями резистентности.
P236L	Селекция происходит на фоне приема DLV (нечасто); обеспечивает резистентность высокого уровня к DLV.
K238T/N	Селекция происходит на фоне приема ННИОТ (нечасто), обнаруживаются, как правило, в комбинации с K103N или другими мутациями резистентности к ННИОТ. Обеспечивают резистентность промежуточного уровня к DLV и NVP и низкого уровня к EFV.
Y318F	Селекция происходит на фоне приема ННИОТ (нечасто); обеспечивает резистентность к DLV от промежуточного до высокого уровня и резистентность к NVP от низкого до промежуточного уровня.

Таблица 2.13. Мутации резистентности к ингибиторам протеазы (ИП)

Мутация	Описание
L10I/F/R/V	Второстепенные (дополнительные) мутации, усиливающие резистентность к ИП при наличии других мутаций резистентности к ИП. L10V повышает резистентность к TPV при наличии других мутаций резистентности к TPV.
V11I	Повышает резистентность к DRV при наличии других мутаций резистентности к DRV.
I13V	Повышает резистентность к TPV при наличии других мутаций резистентности к TPV.
K20R/I/M/T/V	Дополнительные мутации (полиморфизмы), которые могут способствовать снижению чувствительности к ИП при наличии других мутаций резистентности к ИП. Мутации K20M/R/V повышают резистентность к TPV при наличии других мутаций резистентности к TPV.
L23I	Редкая мутация; обеспечивает резистентность к NFV низкого уровня.
L24I/F	L24I обеспечивает резистентность к ИП, особенно к IDV, в присутствии других мутаций резистентности к ИП. L24F — редкая мутация; ее влияние на чувствительность вируса к ИП неизвестно.
D30N	Первичная (основная) мутация резистентности к ИП, селекция которой происходит только на фоне приема NFV, особенно если штамм вируса относится к подтипу B; обеспечивает резистентность к NFV промежуточного уровня; дальнейшее снижение чувствительности обеспечивают мутации N88D/S.
V32I	Дополнительная мутация, обеспечивающая резистентность низкого уровня к IDV, RTV, APV, LPV. Повышает резистентность к DRV при наличии других мутаций резистентности к DRV.
L33F/I/V	L33F снижает чувствительность вируса к RTV, APV, LPV, ATV, TPV и DRV при наличии других мутаций резистентности к ИП. L33I/V — полиморфизмы, которые, по имеющимся данным, не снижают чувствительность вируса к препаратам.
E35G	Повышает резистентность к TPV при наличии других мутаций резистентности к TPV.
M36I/V/L	M36I/V — дополнительные мутации, которые способствуют снижению чувствительности к ИП при наличии других мутаций резистентности к ИП. M36I повышает резистентность к TPV при наличии других мутаций резистентности к TPV. M36L : влияние мутации на чувствительность вируса к ИП неизвестно.
K43T	Повышает резистентность к TPV при наличии других мутаций резистентности к TPV.
M46I/L/V	M46I/L — дополнительные мутации, которые способствуют снижению чувствительности к ИП при наличии других мутаций резистентности к ИП. M46L повышает резистентность к TPV при наличии других мутаций резистентности к TPV. M46V — редкая мутация с неизвестным влиянием на чувствительность вируса к ИП.
I47A/V	I47V снижает чувствительность вируса к APV, IDV, RTV, LPV, TPV и DRV при наличии других мутаций резистентности к ИП. I47A обеспечивает резистентность к LPV от промежуточного до высокого уровня.
G48V/M	G48V закрепляется на фоне приема SQV; обеспечивает резистентность к SQV промежуточного уровня и резистентность к другим ИП низкого уровня. G48M : влияние на чувствительность вируса к ИП неизвестно.
I50V/L	I50V закрепляется на фоне приема APV у пациентов, ранее не получавших ИП; обеспечивает резистентность к APV промежуточного уровня и резистентность к RTV и LPV от низкого до промежуточного уровня. Повышает резистентность к DRV при наличии других мутаций резистентности к DRV. I50L закрепляется на фоне приема ATV у пациентов, ранее не получавших ИП; обеспечивает резистентность к ATV от промежуточного до высокого уровня; чувствительность вируса к другим ИП сохраняется или увеличивается.
F53L	Повышает резистентность к ИП при наличии других мутаций резистентности к ИП.

Таблица 2.13. Мутации резистентности к ингибиторам протеазы (ИП)
(продолжение)

Мутация	Описание
I54V/M/L/T/S/A	I54V повышает резистентность к ИП при наличии других мутаций резистентности к ИП. I54M/L закрепляются на фоне приема APV или FPV; обеспечивают резистентность от низкого до промежуточного уровня. Повышают резистентность к DRV при наличии других мутаций резистентности к DRV. I54T/S/A : влияние на чувствительность вируса к ИП неизвестно. I54A/M/V повышают резистентность к TPV при наличии других мутаций резистентности к TPV.
Q58E	Повышает резистентность к TPV при наличии других мутаций резистентности к TPV.
L63A/C/E/H/P/Q/R/S/T/V/I	L63P — распространенный полиморфизм; повышает резистентность к ИП при наличии других мутаций резистентности к ИП. Прочие мутации : влияние на чувствительность вируса к ИП неизвестно.
H69K	Повышает резистентность к TPV при наличии других мутаций резистентности к TPV.
A71V/T/I	A71V/T снижают чувствительность вируса ко всем ИП при наличии других мутаций резистентности к ИП. A71I : влияние на чувствительность вируса к ИП неизвестно.
G73S/C/T/A	G73S/C/T повышают резистентность к NFV, IDV, SQV и ATV при наличии других мутаций резистентности к ИП. G73A встречается нечасто.
T74P	Повышает резистентность к TPV и DRV при наличии других мутаций резистентности.
L76V	Снижает чувствительность вируса к LPV в неизвестной степени. Повышает резистентность к DRV при наличии других мутаций резистентности к DRV.
V77I	Полиморфизм, обеспечивает небольшое снижение чувствительности к NFV.
V82A/T/F/S/I/G/L	V82A/T/F/S — первичные мутации резистентности к ИП, которые снижают чувствительность вируса к LPV, IDV и RTV, а также к NFV, SQV, APV и ATV при наличии других мутаций резистентности к ИП. V82I — полиморфизм, минимально влияющий на чувствительность вируса к ИП. V82M обнаруживается при инфекции штаммом подтипа G, снижает чувствительность вируса к IDV. V82L/T повышают резистентность к TPV при наличии других мутаций резистентности к TPV.
N83D	Повышает резистентность к TPV при наличии других мутаций резистентности к TPV.
I84V/A/C	I84V снижает чувствительность вируса ко всем ИП: в наибольшей степени к APV, NFV и SQV, в наименьшей — к LPV. Повышает резистентность к TPV и DRV при наличии других мутаций резистентности. I84A/C : эффект близок к I84V, но эти мутации встречаются редко.
N88S/D	N88D обеспечивает резистентность промежуточного уровня к NFV и резистентность низкого уровня к SQV и ATV. N88S обеспечивает резистентность промежуточного уровня к NFV и ATV, резистентность низкого уровня к IDV и гиперчувствительность вируса к APV.
L89V	Повышает резистентность к DRV при наличии других мутаций резистентности к DRV.
L90M	Сама по себе вызывает резистентность промежуточного уровня к SQV и NFV и резистентность низкого уровня к другим ИП. Повышает резистентность к TPV при наличии других мутаций резистентности к TPV.
I93L/M	I93L — распространенный полиморфизм, повышающий резистентность к ИП при наличии других мутаций резистентности к ИП. I93M — мутация, возникающая на фоне терапии ИП, с неизвестным влиянием на чувствительность вируса к ИП.

Таблица 2.14. Пороговые коэффициенты, установленные для методов фенотипирования и виртуального фенотипирования (*VircoTYPE*)

Препарат	Monogram <i>PhenoSense</i>				Virco <i>Antivirogram</i>			Virco <i>VircoTYPE</i>			
	НПК	ВПК	ОПК	Б/К	НПК	ВПК	БПК	НКПК	ВКПК	БПК	
Нуклеозидные и нуклеотидные ингибиторы обратной транскриптазы											
абакавир	ABC	4,5	6,5		К	3,2	7,5	2,2	0,9	3,5	
диданозин	ddI	1,3	2,2		К			2,2	0,9	2,6	
эмтрицитабин	FTC			3,5	Б			3,5			3,1
ламивудин	3TC			3,5	К			2,4	1,2	4,6	
ставудин	d4T			1,7	К			2,3	1,0	2,3	
тенофовир	TDF	1,4	4,0		К			2,1	1,0	2,3	
зидовудин	AZT			1,9	Б			2,7	1,5	11,4	
Ненуклеозидные ингибиторы обратной транскриптазы											
делавирдин	DLV			6,2	Б						
эфавиренз	EFV			3,0	Б			3,4			3,3
этравирин	ETR								1,6	27,6	
невирапин	NVP			4,5	Б			5,5			6,0
Ингибиторы протеазы											
ампренавир	APV							2,2			
ампренавир/ ритонавир	APV/r										
атазанавир	ATV			2,2	К			2,4			
атазанавир/ ритонавир	ATV/r			5,2	К				2,5	32,5	
дарунавир/ ритонавир	DRV/r	10,0	90,0		К	10	40,0	2,4	10,0	106,9	
фосампрена- вир	FPV			2,0	Б						
фосампрена- вир/ ритонавир	FPV/r	4,0	11,0		К				1,5	19,5	
индинавир	IDV			2,1	Б			2,4	1,0	5,4	
индинавир/ ритонавир	IDV/r			10	К				2,3	27,2	
лопинавир/ ритонавир	LPV/r	9,0	55,0		К	10	40,0	1,7	6,1	51,2	
нелфинавир	NFV			3,6	Б			2,2	1,2	9,4	
ритонавир	RTV			2,5	Б						
саквинавир	SQV			1,7	Б			1,8			
саквинавир/ ритонавир	SQV/r	2,3	12,0		К				3,1	22,6	
типранавир/ ритонавир	TPV/r	2,0	8,0		К	3,0	10,0	1,8	1,5	7,0	

НПК = нижний пороговый коэффициент

ВПК = верхний пороговый коэффициент

ОПК = одиночный пороговый коэффициент

Б = биологический

К = клинический

НКПК = нижний клинический пороговый коэффициент

ВКПК = верхний клинический пороговый коэффициент

БПК = биологический пороговый коэффициент

Анализ на тропизм вируса

Анализы на тропизм вируса выполняются для определения возможности назначения пациенту препаратов из класса антагонистов CCR5-рецепторов, которые можно применять только при условии обнаружения чистой популяции R5-тропного вируса.

Общие сведения. ВИЧ прикрепляется к клетке-мишени CD4 путем связывания gp120 с рецептором CD4. Это приводит к конформационным изменениям молекулы gp120, что позволяет ей также связаться с одним из корецепторов на поверхности клетки CD4: CCR5 или CXCR4. Существует четыре категории тропизма:

- **R5-тропизм:** вирусы, способные связываться только с корецептором CCR5
- **X4-тропизм:** вирусы, способные связываться только с корецептором CXCR4
- **Двойной тропизм:** вирусы, способные связываться с любым корецептором
- **Смешанный тропизм:** смешанная популяция вирусов, в которую входят как R5-тропные, так и X4-тропные вирусы.

Анализы на тропизм не позволяют различить вирусы с двойным тропизмом и смешанную популяцию вируса, поэтому эти категории объединяются вместе под названием «D/M-тропные вирусы» или «вирусы с двойным/смешанным тропизмом».

При помощи **секвенирования** было показано, что при заражении почти всегда передается R5-вирус, даже если у источника инфекции популяция D/M-тропных вирусов (*Ann Rev Immunol* 2003; 21:265). Поэтому на ранней стадии ВИЧ-инфекции обычно обнаруживается R5-тропный вирус. По мере прогрессирования болезни возможен сдвиг в сторону популяции D/M-тропного вируса (*CID* 2007; 44:591). У пациентов, получавших несколько схем АРТ, и у пациентов с быстрым прогрессированием болезни преобладают X4-тропные вирусы, однако чистые популяции X4-тропных вирусов встречаются редко (*JID* 2005; 191:806; *CID* 2007; 44:591; *JID* 2006; 194:926). Установлена связь между обнаружением X4-тропных вирусов и ускорением клинического прогрессирования заболевания, однако присутствие таких вирусов не влияет на эффективность стандартных схем АРТ (*CID* 2008; 46:1617).

Таблица 2.15. Распространенность R5-, D/M- и X4-тропных вирусов среди ВИЧ-инфицированных

Источник	Лечение	N	R5	D/M	X4
<i>JID</i> 2005; 192:466	Не получавшие АРТ	979	82%	18%	<1%
<i>JID</i> 2005; 191:866	Не получавшие АРТ	462	81%	18%	<1%
<i>CID</i> 2007; 44:591	Получавшие АРТ	391	50%	46%	4%
<i>Viral Entry</i> 2007; 3:10	Получавшие АРТ	2560	56%	41%	3%

Доступные методы анализа. Существует два высокопроизводительных диагностических метода фенотипирования: *Phenoscript* (VIRalliance, Париж, Франция) и *Trofile* (Monogram Biosciences, Inc., Сан-Франциско, Калифорния, США). На сегодняшний день анализы на тропизм вируса выполняются только по методике *Trofile* при условии вирусной нагрузки ≥ 1000 копий/мл; стоимость одного анализа составляет 1960 долл., результаты сообщаются через 2–3 недели (посетите сайт www.trofileassay.com или позвоните по телефону 1-800-777-0177). Показанием к проведению анализа служит рассмотрение возможности назначения антагониста CCR5, поскольку препараты этого класса следует применять только у пациентов с «чистой» популяцией R5-тропного вируса. В исследованиях MOTIVATE 1 и 2 анализ *Trofile* применялся для скринингового обследования пациентов, сменивших несколько схем АРТ, у которых вирус был устойчив к антиретровирусным препаратам трех классов. Результаты скрининга показали, что у 61% из 3244 сменивших несколько схем АРТ кандидатов на участие в исследовании, популяция вируса состояла исключительно из R5-тропных вирусов. Через 48 недель лечения в рамках клинических исследований MOTIVATE 1 и 2 уровень вирусной нагрузки < 50 копий/мл был зарегистрирован у 45% пациентов, получавших маравирик (MVC) в сочетании с

оптимально подобранной схемой АРТ, и у 17% пациентов контрольной группы, получавших только оптимально подобранные схемы АРТ (*NEJM* 2008; 359:1429). В исследовании MERIT, в котором сравнивалась эффективность MVC-содержащей и EFV-содержащей схемы ВААРТ у ранее не получавших АРТ пациентов, через 48 недель лечения уровень вирусной нагрузки <50 копий/мл был зарегистрирован у 69% пациентов группы, получавшей EFV, и у 65% пациентов в группе, получавшей MVC (Saag M. IV конференция IAS 2007 г; тезисы WESS104). При последующем анализе было установлено, что у 10 пациентов, у которых схема АРТ с маравироком была неэффективна, в промежутке между скрининговым обследованием и началом клинического исследования появился Х4-тропный ВИЧ (Heera J., 15-я конференция CROI, 2008 г; тезисы 40LB). В более позднем отчете указывалось, что у некоторых пациентов, у которых маравирик был неэффективен, Х4-тропный вирус обнаруживался только с помощью более современной и более чувствительной методики «SensiTrop» (см. ниже). Окончательная скорректированная частота достижения адекватной супрессии вируса составила 68% в обеих группах (Lazzarin A., конференция IDSA/ICAAC 2008 г.; тезисы H1248). Результаты этих исследований указывают на важность определения тропизма ВИЧ перед назначением MVC.

Точность метода зависит от его способности обнаруживать минорные штаммы вируса. Первоначальный метод *Trofile* обладал 100% специфичностью для штаммов, составлявших 10% от общей популяции вируса, однако его чувствительность для штаммов, составлявших 5% от общей популяции, снижалась до 85% (*Antimicrob Ag Chemother* 2007; 51:566; *J Clin Micro* 2007; 45:279). Метод *Trofile* «повышенной чувствительности» пришел на замену исходному методу в июле 2009 года и сейчас является диагностическим стандартом. Этот метод, по-видимому, способен выявлять Х4-тропный вирус, составляющий 0,3% от общей популяции, что в 30 раз превышает возможности ранней версии (Reeves J., 15-я конференция CROI 2008 г., тезисы 869; Lazzarin A., конференция IDSA/ICAAC 2008 г., тезисы H1248; *Antivir Ther* 2008; 13 Suppl 3:A98 и A99).

СКРИНИНГОВЫЕ ЛАБОРАТОРНЫЕ МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Стандартный перечень скрининговых лабораторных анализов, рекомендуемый для пациентов с установившейся ВИЧ-инфекцией, приведен в таблице 2.16 на стр. 51–53 (Руководство IDSA по оказанию первичной помощи, *CID* 2004; 39:609).

Полный клинический анализ крови. Очень важно следить за показателями клинического анализа крови, поскольку у пациентов часто развиваются анемия, лейкопения, лимфопения и тромбоцитопения, обусловленные либо непосредственным действием ВИЧ, либо побочными эффектами принимаемых препаратов (*JAIDS* 1994; 7:1134; *JAIDS* 2001; 28:221). Клинический анализ крови повторяют каждые 3–6 месяцев; при наличии определенных симптомов (головная боль, утомляемость), на фоне приема препаратов, угнетающих кроветворение (например, зидовудина), и при выявлении показателей, близких к нижней границе нормы или ниже нормы, клинический анализ крови следует повторять чаще.

Биохимический анализ крови. Биохимический анализ крови рекомендуется проводить при первичном обследовании ВИЧ-инфицированных из-за высокой распространенности болезней печени (*JID* 2002; 186:231), для оценки функции почек и степени истощения, а также для получения исходных показателей крови у пациентов, у которых с большой вероятностью имеются полиорганные нарушения, причиной которых служит ВИЧ-инфекция или побочные эффекты принимаемых препаратов. Повышенная активность трансаминаз выявляется примерно у 75% пациентов, у 20% пациентов обнаруживаются серьезные отклонения лабораторных показателей (*JAIDS* 1994; 7:1134).

Серологическое обследование на сифилис (*MMWR* 2006; 55[RR-1]:22). Поскольку немало живущих половой жизнью пациентов одновременно инфицировано ВИЧ и сифилисом, нетрепонемный тест на сифилис (VDRL или RPR) следует проводить при первичном обследовании, а затем повторять ежегодно. Примерно у 6% ВИЧ-инфицированных нетрепонемные скрининговые тесты дают биологические ложноположительные результаты. Некоторые лаборатории сейчас проводят скрининг на сифилис с помощью трепонемного ИФА, который способен выявить лиц с

нелеченым или недолеченным сифилисом (*Infect Med* 2004; 21:399). Возможны ложноположительные результаты, поэтому необходимо проводить подтверждающие тесты. Факторы риска получения биологических ложноположительных результатов при проведении нетрепонемных тестов на сифилис (VDRL или RPR) включают потребление инъекционных наркотиков, беременность и ВИЧ-инфекцию (*CID* 1994; 19:1040; *JID* 1992; 165:1124; *JAIDS* 1994; 7:1134; *Am J Med* 1995; 99:55). При анализе примерно 300 000 результатов VDRL-тестов частота биологических ложноположительных результатов среди ВИЧ-инфицированных составила 2,1%, в то время как среди не инфицированных ВИЧ она была всего 0,24% (*Int J STD AIDS* 2005; 16:722). При проведении нетрепонемных тестов определяется титр антител, который коррелирует с активностью заболевания. Положительные результаты скринингового обследования на сифилис необходимо подтверждать другими методами: реакцией агглютинации латексных частиц с трепонемными антигенами (TP-PA). У многих пациентов положительные результаты трепонемных тестов сохраняются в течение всей жизни, но результаты VDRL или RPR обычно становятся отрицательными или же остаются положительными, показывая низкий титр антител. У некоторых ВИЧ-инфицированных наблюдаются «атипичные результаты серологических тестов на сифилис», когда получают необычно высокие или необычно низкие или переменные титры антител, но «у большинства ВИЧ-инфицированных пациентов серологическое обследование достаточно точно и надежно позволяет диагностировать сифилис и оценить эффективность терапии» (*MMWR* 2002; 51[RR-6]:19). Рекомендации по ведению пациентов см. [на стр. 457](#).

Скрининговые анализы на прочие инфекции, передающиеся половым

путем. У ВИЧ-инфицированных часто выявляются возбудители инфекций *N. gonorrhoeae* и (или) *C. trachomatis* (*AIDS* 2000; 14:297), причем эти инфекции часто протекают бессимптомно как у мужчин, так и у женщин (*Sex Transm Dis* 2001; 28:33; *CID* 2002; 35:1010). Диагностика ИППП очень важна, поскольку 1) наличие ИППП с большой вероятностью указывает на образ жизни, связанный с высоким риском передачи ИППП и ВИЧ, 2) ИППП увеличивают риск передачи ВИЧ, 3) выявление и лечение ИППП уменьшают вероятность заражения других людей (*Sex Transm Infect* 1999; 75:3; *Lancet* 1995; 346:530). Сейчас для скринингового выявления *N. gonorrhoeae* и *C. trachomatis* у мужчин и женщин широко применяются анализы мочи методом амплификации нуклеиновых кислот (АНК). Преимуществами анализа мочи методом АНК служат хорошая чувствительность и специфичность, а также простота забора биоматериала (*MMWR* 2006; 55 [RR11]:1-9). Стоимость одного анализа обычно в пределах 40–100 долл. Скрининговое обследование на *N. gonorrhoeae* и *C. trachomatis* рекомендуется проводить пациентам, ведущим половую жизнь, а также при наличии симптомов, характерных для этих инфекций. К альтернативным, зачастую менее дорогостоящим анализам относятся мазки из уретры и цервикального канала для выявления *N. gonorrhoeae* и (или) *C. trachomatis* культуральным методом, методом гибридизации нуклеиновых кислот, реакции прямой иммунофлюоресценции (методом флюоресцирующих антител) или методом иммуноферментного анализа (ИФА). Метод АНК не утвержден FDA для исследования мазков из прямой кишки, и возможность выполнить посев диагностического материала на *C. trachomatis* есть далеко не везде. В клинических стандартах CDC рекомендация о скрининговом обследовании ВИЧ-инфицированных пациентов смягчена («на усмотрение врача»), поскольку исследование методом АНК достаточно дорогостоящее и, кроме того, пока не доказано, что такое обследование эффективно снижает риск передачи ВИЧ (*MMWR* 2006; 55; RR11:1). В *Руководстве CDC по ВИЧ-инфекции и ИППП* 2006 года впервые обратившимся ВИЧ-инфицированным пациентам рекомендуется назначать следующие лабораторные исследования (*MMWR* 2006; 55:RR11):

- Нетрепонемный тест на сифилис (VDRL или RPR) или трепонемный ИФА.
- На усмотрение врача — скрининговое обследование на *N. gonorrhoeae* и (или) *C. trachomatis* либо методом посева мазка из уретры (мужчины) или посева мазка из канала шейки матки (женщины), либо методом АНК, для которого собирают первые 10–30 мл мочи. Анализы методом АНК более чувствительны, но также более дорогостоящие. Можно сделать анализ на один из этих возбудителей или на оба.

- Женщинам необходимо скрининговое обследование на трихомоноз (микроскопия влажного влагалищного мазка или посев мазка из влагалища).
- При обследовании пациентов, практикующих анальный секс: посев мазка из прямой кишки на *N. gonorrhoeae* и *C. trachomatis* (на усмотрение врача). Обратите внимание, что метод АНК не утвержден FDA для исследования мазков из прямой кишки, и возможность выполнить посев диагностического материала на *C. trachomatis* есть далеко не везде.
- При обследовании пациентов, практикующих оральный секс: посев мазка с задней стенки глотки на *N. gonorrhoeae* (на усмотрение врача).

ПОВТОРНЫЕ ОБСЛЕДОВАНИЯ. Пациентам, ведущим половую жизнь, обследование на ИППП рекомендуется проводить ежегодно; пациентам из групп высокого риска — каждые 3–6 месяцев. Цель таких обследований состоит в том, чтобы выявить пациентов, чей образ жизни связан с высоким риском передачи ВИЧ и которые иначе остались бы вне подозрений, для проведения более углубленного консультирования, прослеживания контактов и лечения.

Таблица 2.16. Стандартный перечень лабораторных анализов

Лабораторный анализ	Стоимость*	Частота проведения и пояснения
Анализы на ВИЧ		
Подтверждение диагноза ВИЧ-инфекции	100 долл.	Серологическое обследование на ВИЧ по утвержденному протоколу. Результаты экспресс-тестов и ИФА на ВИЧ необходимо подтверждать результатами вестерн-блота, иммунофлюоресцентного анализа или анализа на РНК ВИЧ. Если результат подтверждающего теста отрицательный или сомнительный, обследование на ВИЧ повторяют через месяц. См. стр. 9–19.
Определение вирусной нагрузки	150–300 долл.	См. стр. 19–25. Определять при первичном обследовании и затем каждые 3–6 месяцев.
Количество и процентное содержание лимфоцитов CD4	100–150 долл.	См. стр. 25–29. Определять при первичном обследовании и затем каждые 3–6 месяцев. Некоторые специалисты рекомендуют при первичном обследовании этот анализ выполнять дважды из-за большой вариабельности результатов и важности этого показателя для принятия клинических решений независимо от их срочности.
Тест на резистентность ВИЧ методом генотипирования	100–150 долл.	Проводится при первичном обследовании независимо от наличия показаний к началу АРТ. См. стр. 29–35. Назначать при первичном обследовании и при вирусологической неэффективности терапии.
HLA-B*5701	100 долл.	Только перед планируемыми назначениями АВС.
Тест на тропизм ВИЧ	1960 долл.	Только перед планируемыми назначениями антагониста CCR5 и при неэффективности препарата этого класса (например, маравирока).
Серологические тесты		
Скрининговое обследование на гепатит	60–80 долл.	При подозрении на острый гепатит определите антитела класса IgM к ВГА, антитела к ВГС, HBsAg ± антитела класса IgM к HBcAg. При хроническом гепатите и для установления иммунного статуса определите антитела к ВГА, антитела к ВГС, HBsAg, антитела к HBsAg и HBcAg.
Антитела к ВГА всех классов**	20–30 долл.	Скрининговый анализ на наличие иммунитета к вирусу гепатита А при первичном обследовании для выявления показаний к вакцинации против гепатита А.
Антитела к HBcAg или антитела к HBsAg**	10–15 долл.	ВГВ: Скрининговый анализ на наличие иммунитета к вирусу гепатита В путем определения антител к HBcAg и к HBsAg, а также HBsAg для выявления показаний к вакцинации. Если пациент был вакцинирован против ВГВ, следует определить титр антител к HBsAg. При обнаружении только антител к HBcAg (без HBsAg и антител к HBsAg) исключите хронический гепатит В с помощью анализа на ДНК ВГВ; если ДНК ВГВ не обнаруживается, вакцинируйте пациента против гепатита В. Повторите анализ на антитела к HBsAg через 1–2 месяца после введения третьей дозы вакцины, чтобы удостовериться в появлении иммунной защиты (см. стр. 57).
HBsAg**	20–25 долл.	Скрининговая диагностика хронического гепатита В. Пациентам с повышенным уровнем трансаминаз, но отрицательными результатами анализа на HBsAg следует рассмотреть возможность назначения анализа на ДНК ВГВ.
Антитела к ВГС**	ИФА на ВГС 25 долл.	Скрининг на антитела к ВГС; положительный результат подтверждают с помощью качественного анализа на РНК ВГС за 150 долл. У серонегативных пациентов принадлежность к группе высокого риска, повышенная активность трансаминаз и количество лимфоцитов CD4 менее 200 мкл ⁻¹ служат относительными показаниями к проведению анализа на РНК ВГС.
Сифилис (VDRL, RPR или трепонемный ИФА)**	5–16 долл.	Положительные результаты необходимо подтверждать методами FTA-ABS, МНА-TR или TRPA. Пациентов из групп риска, ведущих активную половую жизнь, необходимо обследовать ежегодно. Обратите внимание на возможность ложноположительных результатов при применении трепонемного ИФА (стр. 48).
Антитела класса IgG к <i>Toxoplasma</i> **	12–15 долл.	Назначать всем пациентам при первичном обследовании; повторно обследовать серонегативных лиц, у которых количество лимфоцитов CD4 ≤100 мкл ⁻¹ , если они не получают ТМП-СМК для профилактики пневмоцистной пневмонии или если у них появились симптомы токсоплазменного энцефалита. Предпочтительны агглютинационные тесты на IgG. Тесты на IgM в данном случае бесполезны.
Антитела класса IgG к <i>varicella-zoster</i> *	10 долл.	Назначают лицам, которые не перенесли ветряную оспу или опоясывающий лишай (или если это неизвестно), для выявления показаний к мерам профилактики на случай контакта: вакцинации против ветряной оспы и/или в/м введению иммуноглобулина, обогащенного антителами к <i>varicella-zoster</i> , после произошедшего контакта с больным.

* Типичные цены приведены на основании прейскурантов пяти лабораторий.

** Рекомендации из клинических стандартов IDSA по оказанию первичной медицинской помощи (CID 2004; 39:609).

Таблица 2.16. Стандартный перечень лабораторных анализов (продолжение)

Лабораторный анализ	Стоимость*	Частота проведения и пояснения
Биохимический анализ крови		
Развернутый биохимический анализ крови**	10–15 долл.	Включает определение показателей функции печени и почек. Повторять через каждые 6–12 месяцев или чаще при наличии отклонений и при лечении гепатотоксическими или нефротоксическими препаратами, включая большинство схем АРТ.
Г-6-ФД	14–20 долл.	Обследовать: 1) возможных носителей соответствующего гена: врожденная недостаточность Г-6-ФД (сцепленный с X-хромосомой рецессивный признак) встречается преимущественно у мужчин — афроамериканцев, итальянцев, сефардских евреев, арабов и уроженцев Индии и Юго-Восточной Азии; 2) пациентов, перенесших гемолитический криз на фоне приема препаратов-оксидантов (после выздоровления) (см. стр. 60). При наличии подозрений на дефицит Г-6-ФД активность фермента можно определить либо при первом обращении, либо перед назначением препаратов-оксидантов. Риск возникновения гемолиза: примахин > дапсон > сульфаниламиды.
Липидный спектр и глюкоза крови (натошак)**	20–40 долл.	Рекомендуется определять регулярно пациентам, принимающим антиретровирусные препараты. Эти показатели определяют перед началом ВААРТ и через 3–6 месяцев после начала ВААРТ; дальнейшие обследования проводятся ежегодно или чаще в зависимости от исходных результатов и наличия факторов риска.**
Анализ крови		
Полный клинический анализ крови**	6–8 долл.	Повторять каждые 3–6 месяцев; при низких показателях и на фоне приема токсичных для костного мозга препаратов повторять чаще.
Количество и процентное содержание лимфоцитов CD4**	60–150 долл.	Повторять каждые 3–6 месяцев. При получении результатов, которые в значительной степени отличаются от результатов предыдущих измерений, в том числе выпадающих из ожидаемого диапазона, анализ следует повторить. В регулярном выполнении этого анализа пациентам, у которых количество лимфоцитов CD4 <50 мкл ⁻¹ , нет практической необходимости, за исключением наблюдения за эффективностью АРТ.
Прочие		
Рентген грудной клетки	40–140 долл.	Может проводиться всем пациентам или только по показаниям, включающим перенесенное острое заболевание легких, хроническое заболевание легких и положительный результат туберкулиновой пробы**.
Пап-мазок**	25–40 долл.	Повторить через 6 месяцев, затем проводить ежегодно, если отсутствуют какие-либо изменения. Если мазок непригоден для исследования, его следует повторить. При обнаружении изменений, указывающих на атипию или более выраженные изменения по шкале Бетесда, следует направить пациентку к гинекологу (см. стр. 54–56).
Туберкулиновая проба или тест на высвобождение гамма-интерферона	10 долл. — туберкулиновая проба 40 долл. — тест на высвобождение гамма-интерферона	Выполнить при первичном обследовании. Рекомендуется проводить ежегодно пациентам с отрицательным результатом туберкулиновой пробы, входящим в группу риска по заражению туберкулезом; также желательно повторно обследовать пациентов, у которых на фоне ВААРТ количество лимфоцитов CD4 превысило 200 мкл ⁻¹ , если до начала терапии результат теста был отрицательным.
Анализ мочи методом АНК на <i>N. gonorrhoeae</i> и <i>S. trachomatis</i> (или другой анализ на эти инфекции) пациентам, ведущим половую жизнь**	40–100 долл.	В <i>Руководстве CDC по профилактике ВИЧ-инфекции</i> рекомендуется проводить этот анализ пациентам, ведущим половую жизнь; «необходимость обследования определяет лечащий врач» (<i>MMWR</i> 2003; 52[RR-12]:1-24). Рекомендуется для выявления пациентов, образ жизни которых связан с высоким риском передачи ВИЧ и других инфекций, для определения показаний к углубленному консультированию, лечению и прослеживанию контактов. Пациентов, ведущих половую жизнь, обследуют ежегодно; пациентов из групп высокого риска — чаще (см. стр. 49). (Метод АНК = метод амплификации нуклеиновых кислот).
Анализ мочи	10 долл.	Анализ мочи наиболее важно назначать ВИЧ-инфицированным афроамериканцам и пациентам с сопутствующими заболеваниями: сахарным диабетом, артериальной гипертензией или гепатитом С. При обнаружении протеинурии 1+ следует определить отношение белок/креатинин в суточной моче.

* Типичные цены приведены на основании прейскурантов пяти лабораторий.

** Рекомендации из клинических стандартов IDSA по оказанию первичной медицинской помощи (*CID* 2004; 39:609).

Таблица 2.16. **Стандартный перечень лабораторных анализов (продолжение)**

Лабораторный анализ	Стоимость*	Частота проведения и пояснения
Скрининговые обследования на распространенные заболевания		
Маммография	100–350 долл.	Ежегодно всем женщинам >50 лет.
Колоноскопия	300–800 долл.	Всем пациентам >50 лет.
Простатический специфический антиген (ПСА)	50–100 долл.	Мужчинам >50 лет.
Костная денситометрия	150–900 долл.	При наличии факторов риска развития остеопороза. При болях в тазобедренном суставе показана МРТ.

Рентгенография грудной клетки. Распространенность легочных заболеваний у ВИЧ-инфицированных пациентов остается высокой даже в эпоху ВААРТ (*Am Rev Respir Crit Care Med* 2001; 164:21; *Chest* 2001; 120:1888). Иногда рекомендуют выполнять рентгенографию грудной клетки при первичном обследовании всем ВИЧ-инфицированным для выявления бессимптомного туберкулеза и для получения исходных данных у пациентов с высоким риском заболеваний легких. Однако в продольном (лонгитудинальном) исследовании, включавшем 1065 пациентов с различными стадиями ВИЧ-инфекции, которым выполнялась рентгенография грудной клетки при первичном обследовании и затем через 3, 6 и 12 месяцев (*Arch Intern Med* 1996; 156:191), патологические изменения были выявлены только на 123 (2%) рентгенограммах из 5263. Ни у кого из пациентов с отрицательными результатами туберкулиновой пробы и отсутствием симптомов не было выявлено активного туберкулеза, и только у одного из 82 пациентов с положительными результатами туберкулиновой пробы были обнаружены патологические изменения на рентгенограмме. Авторы пришли к выводу, что проведение рентгенографии грудной клетки всем ВИЧ-инфицированным пациентам с отрицательными результатами туберкулиновой пробы нецелесообразно. В условиях ограниченных ресурсов, согласно стратегии ВОЗ, следует выполнять рентгенографию грудной клетки для исключения активного туберкулеза всем пациентам с положительными результатами туберкулиновой пробы, однако проведенное в Ботсване исследование показало, что среди 563 ВИЧ-инфицированных пациентов, у которых были получены положительные результаты туберкулиновых проб, но отсутствовали симптомы туберкулеза, только у одного пациента (0,02%) на рентгенограмме грудной клетки были обнаружены признаки активного туберкулезного процесса (*Lancet* 2003; 362:1551). Исследователи считают, что в условиях ограниченных ресурсов рентгенографию грудной клетки следует выполнять только при наличии симптомов туберкулеза.

Туберкулиновая проба и тест на высвобождение гамма-интерферона. CDC рекомендует выполнять реакцию Манту (внутрикожную туберкулиновую пробу) с использованием 5 ТЕ очищенного туберкулина (PPD) тем ВИЧ-инфицированным пациентам, у которых в прошлом не было положительной реакции на туберкулин. Туберкулиновую пробу проводят ежегодно, если пациент принадлежит к какой-либо из групп высокого риска по туберкулезу (например, заключенный, потребитель инъекционных наркотиков или бездомный), при условии отрицательных результатов предыдущих туберкулиновых проб. Туберкулиновую пробу также следует провести после восстановления иммунной системы, когда количество лимфоцитов CD4 повышается до >200 кл⁻¹. Проба считается положительной, если через 48–72 часов после введения туберкулина обнаруживается папула ≥ 5 мм в диаметре. Пробу на анергию проводить не рекомендуется. Диагностические тест-системы *Quantiferon-TB Gold* и *T-SPOT* основаны на измерении продукции гамма-интерферона (гамма-ИФН) лимфоцитами *in vitro*. У тестов на высвобождение гамма-ИФН показатели специфичности выше, чем у кожных проб (92–97% по сравнению с 55–95%), и отсутствует перекрестная реакция с БЦЖ (*PLoS ONE* 2008; 16:e2665). Другие преимущества включают более низкую вариабельность интерпретации результатов, отсутствие «бустерного» эффекта (эффекта усиления выраженности реакции при

частой постановке кожной пробы) и необходимость только одного посещения клиники (*Ann Intern Med* 2007; 146:340; *MMWR* 54 RR15:49; *Proc Am Thorac Soc* 2006; 3:103; *Curr Opin Infect Dis* 2006; 19:189). Недостатками тестов на высвобождение гамма-ИФН являются высокая стоимость, сложность выполнения, необходимость специального лабораторного оборудования и обученного персонала, недостаточное количество данных наблюдений, подтверждающих выгоду от применения этого теста для выявления больных туберкулезом, и ограниченный опыт его применения у ВИЧ-инфицированных. Результаты метаанализа показали, что внутрикожная туберкулиновая проба обладает хорошей специфичностью у не вакцинированных БЦЖ пациентов, а вакцинированным БЦЖ пациентам предпочтительнее проводить тест на высвобождение гамма-ИФН (*Ann Intern Med* 2007; 146:340). В настоящее время проводятся исследования по оценке относительных преимуществ этих тестов для выявления случаев латентного туберкулеза у ВИЧ-инфицированных (*Ann Intern Med* 2007; 146:340).

Мазок по Папаниколау. CDC рекомендует проводить гинекологический осмотр, включающий влагалитское обследование и мазок по Папаниколау, при первичном обследовании, через 6 месяцев и затем ежегодно (*MMWR* 2002; 517[RR-6]:59; *JAMA* 1994; 271:1866; *MMWR* 1999; 48[RR-10]:31); в таблице 2.17 приведены рекомендации по ведению пациенток в зависимости от результатов осмотра.

Таблица 2.17. Рекомендованная тактика ведения пациенток в зависимости от результата мазка по Папаниколау (*MMWR* 2006; RR-11:1-94; *JAMA* 1989; 262:931; *JAMA* 2002; 287:2114)

Результаты	Дальнейшая тактика
Выраженное воспаление	Обследовать на инфекции; повторить мазок, лучше через 2–3 месяца.
Атипия, атипичные клетки плоского эпителия неопределенной значимости (ASCUS) <ul style="list-style-type: none"> ASC-US (неопределенной значимости) ASC-H (нельзя исключить плоскоклеточное интраэпителиальное поражение высокой степени выраженности). ASC-H — это промежуточный результат между ASCUS и HSIL (плоскоклеточным интраэпителиальным поражением высокой степени выраженности) ACG (атипичные железистые клетки) 	<ul style="list-style-type: none"> Направить на кольпоскопию ASC-US: принять решение о дальнейшей тактике ведения пациентки может помочь тестирование на ВПЧ (<i>Am J Obstet Gynec</i> 2007; 197:346). При отсутствии изменений на кольпоскопии и исключении CIN: повторить кольпоскопию через 12 и 24 месяца. При отрицательных результатах вернуться к ежегодным скрининговым обследованиям. ASC-H: цитологический мазок через 6 и 12 месяцев. При обнаружении ASC-US или более выраженных изменений повторить цитологический мазок и кольпоскопию. ACG: кольпоскопия + соскоб эндометрия; женщинам старше >35 лет следует выполнить соскоб из канала шейки матки.
Плоскоклеточное интраэпителиальное поражение низкой степени выраженности (LSIL)	Кольпоскопия: при отсутствии изменений на кольпоскопии и исключении эпителиального поражения и CIN: повторить цитологический мазок через 6 и 12 месяцев. Если в повторных мазках обнаружатся патологические изменения, выполнить кольпоскопию и биопсию.*
Плоскоклеточное интраэпителиальное поражение высокой степени выраженности (HSIL) (рак in situ)	Направить на кольпоскопию или электрохирургическую петлевую эксцизию шейки матки
Инвазивный рак	Кольпоскопия с биопсией или конизацией; хирургическое вмешательство или лучевая терапия.

* Большинство гинекологов рекомендуют проводить тщательное обследование при обнаружении любых патологических изменений из-за высокой распространенности плоскоклеточных интраэпителиальных поражений.

Увеличение объема и частоты гинекологических осмотров для ВИЧ-инфицированных женщин связано с многократным возрастанием у них частоты плоскоклеточных интраэпителиальных поражений (SIL) (33–45% у ВИЧ-положительных по сравнению с 7–14% у ВИЧ-отрицательных женщин) и увеличением заболеваемости раком шейки матки в 0–9 раз (*Arch Pediatr Adolesc Med* 2000; 154:127; *Obstet Gynecol Clin N Am* 1996; 23:861; *JAIDS* 2003; 32:527; *JAIDS* 2004;

36:978). Частота и тяжесть цервикальной дисплазии увеличиваются по мере разрушения иммунной системы. Существует тесная связь между ВИЧ-инфекцией и персистирующей ВПЧ-инфекцией, причем типами ВПЧ, ассоциированных с раком шейки матки (16, 18, 31, 33 и 35); эта способность усиливается по мере снижения иммунитета (*CID* 1995; 25 [suppl 1]:S121; *NEJM* 1997; 337:1343; *JID* 2001; 184:682).

МЕТОДИКА ЗАБОРА МАЗКА ПО ПАПАНИКОЛАУ. Соскоб с шейки матки берут шпателем Эйра или изогнутой щеточкой, вращательным движением; можно взять также материал из заднего свода влагалища. Материал для эндоцервикального мазка берут смоченным в физиологическом растворе ватным тампоном или прямой эктоцервикальной щеточкой; материал наносят на предметное стекло и немедленно фиксируют этиловым эфиром в 95% растворе этилового спирта или только 95% раствором этилового спирта. Щеточкой удается взять в 7 раз больше клеток. Чтобы получить информативный мазок, нужно соблюсти следующие правила:

- Материал для мазка брать перед бимануальным исследованием.
- Не следует применять увлажняющие средства, чтобы не загрязнить материал.
- Сначала выполнить забор материала для цитологического исследования, а потом — для выявления возбудителей инфекций, передающихся половым путем.
- При наличии обильных выделений из половых путей осторожно удалить отделяемое большим тампоном, а потом взять мазок.
- Сначала брать соскоб с поверхности влагалищной части шейки матки, а потом — из цервикального канала.
- Небольшие кровянистые выделения не влияют на результат цитологического исследования, но при обильном кровотечении исследование следует отложить.
- Полученный материал распределить равномерно по предметному стеклу, чтобы не было комков, и тут же зафиксировать, пока мазок еще не высох. При использовании фиксирующих аэрозолей головку распылителя следует держать на расстоянии не менее 25 см от предметного стекла, чтобы не нарушить расположение клеток.

Если при осмотре в зеркалах видны язвенные дефекты или экзофитный рост ткани, характерные для инвазивного рака, пациентку следует направить к специалисту, который определит целесообразность биопсии.

Новые технологии приготовления тонкослойных цитологических мазков методом жидкостной цитологии (материал помещается в специальный стабилизирующий раствор), обеспечивают повышенную чувствительность, снижают вероятность приготовления мазков, непригодных для исследования, позволяют проводить анализ на ВПЧ и повышают вероятность распознавания ASCUS.

Анализ на ДНК ВПЧ: результаты скрининга мазков по Папаниколау на ДНК наиболее онкогенных типов ВПЧ (в том числе 16, 18, 31, 33 и 35) сравнили с результатами стандартных тонкослойных мазков по Папаниколау, в которых была выявлена интраэпителиальная неоплазия (CIN 3 степени) или рак (*JAMA* 2002; 288:1749). Оказалось, что тестирование на онкогенные типы ВПЧ обладает большей чувствительностью (91% против 61%), но меньшей специфичностью (73% против 82%).

РЕКТАЛЬНЫЙ МАЗОК ПО ПАПАНИКОЛАУ ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ ПЛОСКОКЛЕТОЧНЫХ ИНТРАЭПИТЕЛИАЛЬНЫХ ПОРАЖЕНИЙ И РАКА ПРЯМОЙ КИШКИ У МСМ

Рак прямой кишки во многом похож на рак шейки матки: оба рака вызываются онкогенными типами вируса папилломы человека (ВПЧ); поражения низкой степени выраженности часто прогрессируют до тяжелых, и мазок по Папаниколау в обоих случаях является эффективным скрининговым методом (*Am J Med* 2000; 108:674). От 60% до 75% МСМ инфицированы ВПЧ (*JID* 1998; 177:361), и распространенность рака прямой кишки в этой группе составляет 35 случаев на 100 тысяч человек, что примерно в 80 раз выше, чем среди населения в целом (*CID* 2006; 43:223; *JAMA*

2000; 285:1736; *Lancet* 1998; 351:1833). При этом среди МСМ, у которых количество лимфоцитов CD4 <500 мкл⁻¹, показатели распространенности рака прямой кишки еще выше (*AIDS* 1998; 12:495).

- **Методика забора мазка.** Специальной подготовки не требуется. Для забора мазка используйте дакроновый (не ватный) тампон. Берите мазок перед ректальным исследованием (т. е. до нанесения смазки). В течение 24 часов перед забором мазка не допускаются клизмы и анальные сношения. Увлажните тампона физиологическим раствором или нестерильной водой. Растяните анальное кольцо таким образом, чтобы увидеть эпителиальную выстилку анального канала и введите тампон в прямую кишку не менее чем на 2 см вглубь по отношению к анальному кольцу. Затем постепенно извлекайте тампон вращательным движением, слегка прижимая его к стенке прямой кишки. Поместите тампон в раствор метанола, взболтайте и отправьте в лабораторию.
- **Чувствительность и специфичность.** Чувствительность метода для выявления дисплазии эпителия прямой кишки достаточно высокая (95%), но специфичность в отношении прогноза результатов биопсии низкая (50%) (*Int J STD AIDS* 2007; 18:77; *CID* 2006; 43:223), что сопоставимо с уровнями чувствительности и специфичности ПАП-мазков с шейки матки. При ретроспективном анализе 8 серий данных результатов ПАП-мазков из прямой кишки и соответствующих им результатов прицельной биопсии, было установлено, что чувствительность ПАП-мазков из прямой кишки составляет 69–93%, а специфичность — 32–59% (*CID* 2006; 43:223).
- **Ректоскопия (аноскопия) с высоким разрешением.** Пациентов, у которых в цитологическом мазке были обнаружены ASC-US, LSIL или HSIL, следует направить на ректоскопию с высоким разрешением. Этот метод аналогичен осмотру шейки матки при кольпоскопии. Американское общество по кольпоскопии и патологии шейки матки (American Society for Colposcopy and Cervical Pathology) ежегодно проводит семинары по ректоскопии с высоким разрешением (www.asccp.org/meetings.shtml).

ПОКАЗАНИЯ. На сегодняшний день нет единого мнения по этому вопросу. Некоторые специалисты рекомендуют выполнять ПАП-мазки один раз в 1–3 года всем пациентам, вступающим в анальные сношения в качестве рецептивного партнера, что практически совпадает с рекомендацией о проведении ПАП-мазков с шейки матки (*Am J Med* 2000; 108: 634). Другие специалисты предлагают сузить показания и выполнять ректальный ПАП-мазок только МСМ, пациентам с аногенитальным раком в анамнезе и женщинам с гистологически подтвержденными патологическими изменениями эпителия шейки матки или вульвы (*J Clin Oncol* 2006; 24: 4516).

ЛЕЧЕНИЕ. При обнаружении патологических изменений следует направить пациента на ректоскопию высокого разрешения и биопсию (*CID* 2004; 38:1490). Также важно, получает ли пациент ВААРТ, поскольку от этого в большой степени зависит ожидаемая продолжительность жизни (*Dis Colon Rectum* 2004; 47:1305).

ОЦЕНКА КАЧЕСТВА. Метаанализ опубликованных данных 21 исследования, проведенного в 1996–2005 годах (*CID* 2006; 43:223), позволил сделать вывод об «ограниченной точности» результатов ректальных ПАП-мазков, что в равной степени относится и к ПАП-мазкам с шейки матки. Ограничения: 1) отсутствие рандомизированных исследований; 2) недостаточно исследований, в которых оценивались стратегии лечения дисплазии; 3) недостаточно изучен естественный процесс прогрессирования дисплазии до рака.

Серологическое обследование на гепатит А. Серологическое обследование на гепатит А (обнаружение антител к ВГА всех классов) проводится для выявления необходимости в вакцинации против гепатита А, которая показана всем восприимчивым к гепатиту А лицам из числа больных хроническим гепатитом С, потребителей инъекционных наркотиков, МСМ, людей, страдающих нарушениями свертываемости крови и хроническими заболеваниями печени, и тех, кто планирует посещение территорий, эндемичных по гепатиту А (*MMWR* 1996; 45[RR-15]:1). Некоторые специалисты считают, что следует вакцинировать всех ВИЧ-инфицированных, восприимчивых к гепатиту А. Антитела к ВГА класса IgG обнаруживаются у 40–70% взрослого населения США и большинства европейских стран (*CID* 1997; 25:726;

MMWR 1999; 48:[RR-12]:1). Для диагностики острого гепатита предпочтительнее определять антитела класса IgM к ВГА. Антитела класса IgG к ВГА начинают определяться через 8–16 недель.

Обследование на гепатит В (см. стр. 480):

- **HBsAg:** указывает на наличие острого или хронического гепатита В.
- **Антитела к HBsAg:** свидетельствуют о наличии иммунитета к вирусу гепатита В вследствие перенесенной инфекции или вакцинации.
- **Антитела к HBcAg:** как правило, свидетельствуют об иммунитете к вирусу гепатита В вследствие инфекции, но не вакцинации. Возможен ложноположительный результат при отсутствии иммунитета к гепатиту В. Могут обнаруживаться при хроническом гепатите В.
- **HBeAg:** указывает на текущее инфекционное заболевание с высоким уровнем репликации вируса и высоким риском передачи.
- **Антитела к HBeAg:** могут обнаруживаться при хронической инфекции или иммунитете. В основном этот анализ целесообразно выполнять пациентам с хронической инфекцией, характеризующейся низким титром ДНК ВГВ и низким риском передачи вируса.
- **ДНК ВГВ:** маркер репликации вируса.
- **Антитела к HBcAg класса IgM:** указывают на недавнее заражение (в течение последних 6 месяцев).

Таблица 2.18. Интерпретация результатов анализов

Анализ	Результаты					
	—	—	—	+	+	—
HBsAg	—	—	—	+	+	—
Антитела к HBcAg	—	—	+	+	+/-	+
Антитела к HBcAg класса IgM	—	—	—	+	—	—
Антитела к HBsAg	—*	+**	+	—	—	—
Интерпретация	Восприимчивость	Иммунитет после вакцинации	Иммунитет после инфекции	Острый гепатит В	Хронический гепатит В	См.***
Вакцинация	Да	Нет	Нет	Нет	Нет	См.***

* У некоторых пациентов после вакцинации антитела не обнаруживаются по причине слабо выраженной реакции гуморального иммунитета, однако клеточный иммунитет обеспечивает достаточную иммунную защиту (*Ann Intern Med* 2005; 142:333)

** Титр ≥ 10 МЕ/мл: анализ на антитела после вакцинации (если таковой предусмотрен) следует делать через 1–2 месяца после введения последней дозы вакцины.

*** Варианты: 1) выздоровление после острого гепатита В; 2) давно сформировавшийся иммунитет; 3) ложноположительный результат анализа на антитела к HBcAg (отсутствие иммунитета к вирусу гепатита В); 4) хронический гепатит В с неопределяемым HBsAg (сделать анализ на ДНК ВГВ). Рекомендуется проконсультироваться с врачом-клиницистом по поводу вакцинации.

СКРИНИНГОВЫЕ АНАЛИЗЫ: всем ВИЧ-инфицированным необходимо выполнять скрининговые анализы на HBsAg и антитела к HBsAg. Анализ на антитела к HBcAg выполняется на усмотрение врача.

- **ПЕРВИЧНОЕ ОБСЛЕДОВАНИЕ** (см. стр. 51 и 480)
- Отрицательные результаты анализов на HBsAg и антитела к HBsAg: вакцинировать.
- Положительный результат анализа на HBsAg: обследовать на хроническую инфекцию (анализы на HBeAg, ДНК ВГВ, показатели функции печени)
- Положительный результат анализа на антитела к HBcAg и отрицательные результаты анализов на HBsAg и антитела к HBsAg: исключить хроническую инфекцию

цию с помощью анализа на ДНК ВГВ, при отрицательном результате анализа на ДНК ВГВ вакцинировать.

Обследование на гепатит С (MMWR 2004; 53[RR-15]:1; клинические стандарты DHHS по лечению оппортунистических инфекций 2008 г.). Антитела к вирусу гепатита С обнаруживаются у 1,8% населения в целом, у 4–6% МСМ и у 70–90% ПИН и больных гемофилией.

СКРИНИНГОВЫЙ АНАЛИЗ. Все ВИЧ-инфицированные должны быть обследованы на антитела к вирусу гепатита С с помощью скрининговых тест-систем третьего поколения, основанных на методе ИФА (*Hepatology* 2002; 36; S3). При обследовании лиц с сохранной функцией иммунной системы показатели чувствительности и специфичности тест-систем третьего поколения превышают 99%, но при обследовании лиц с выраженным иммунодефицитом, например, при количестве лимфоцитов CD4 <100 мкл⁻¹, возможны ложноотрицательные результаты (*JAIDS* 2002; 31:154). При подозрении на ложноотрицательный результат диагноз можно уточнить с помощью качественного или количественного анализа на РНК ВГС (*JID* 1994; 170:433; *Blood* 1993; 82:1010).

ПОДТВЕРЖДАЮЩИЙ АНАЛИЗ. Для пациентов с положительными результатами скринингового анализа методом ИФА обычно рекомендуется подтверждение диагноза гепатита С с помощью качественного анализа на РНК ВГС, однако пациентам из групп риска по гепатиту С, у которых повышен уровень активности АЛТ в этом обычно нет необходимости. У качественных анализов на РНК ВГС порог обнаружения составляет 50–100 МЕ/мл. Отрицательный результат анализа на РНК ВГС не позволяет исключить гепатит С, поскольку концентрация РНК ВГС может периодически снижаться до уровня ниже порога определения; поэтому для исключения диагноза хронического гепатита С необходимо повторить анализ.

ОБСЛЕДОВАНИЕ. 1) вирусная нагрузка ВГС (количественным методом); 2) показатели функции печени; 3) генотипирование ВГС. Количественные методы определения вирусной нагрузки ВГС включают рДНК и ПЦР на РНК ВГС. Порог обнаружения у этих методов составляет 500 МЕ/мл; они могут применяться вместо качественного анализа на РНК ВГС для установления диагноза, поскольку этот анализ все равно потребует выполнения для определения лечебной тактики. Вирусная нагрузка РНК ВГС не коррелирует с тяжестью течения или скоростью прогрессирования болезни, но она коррелирует с ответом на терапию. В основном этот анализ применяется для контроля эффективности проводимой терапии. Пациентам с хроническим гепатитом С следует определять уровень печеночных трансаминаз, хотя возможно тяжелое поражение печени на фоне нормальных уровней активности АСТ и АЛТ. Необходимо определить генотип вируса, поскольку это важный предиктор ответа на терапию. В США примерно в 75% случаев обнаруживается инфекция вирусом генотипа 1, для которой характерен относительно плохой ответ на терапию интерфероном. Восприимчивых пациентов следует вакцинировать от гепатитов А и В. Пациентов, которым планируется курс лечения от гепатита С, необходимо обследовать по плану, приведенному на [стр. 488](#).

Таблица 2.19. **Анализы на ВГС**

Анализы	Стоимость	Описание
ИФА на антитела к ВГС	25–45 долл.	Выявляет перенесенный и текущий гепатит С. Чувствительность тест-систем третьего поколения >99%. ИФА недостаточно специфичен в группах населения с низкой распространенностью гепатита С; для подтверждения диагноза требуется дополнительное исследование другим методом. Методика обнаружения антител к ВГС с помощью рекомбинантного иммуноблоттинга мало пригодна для обследования ВИЧ-инфицированных пациентов.
Качественные анализы на РНК ВГС (ОТ-ПЦР)	160–200 долл.	Технология ОТ-ПЦР позволяет выявить РНК ВГС; может давать ложноположительные и ложноотрицательные результаты. Порог обнаружения — 50 МЕ/мл. Обычно используется для подтверждения результатов анализа на антитела к ВГС.
Количественные анализы на ВГС ПЦР на РНК ВГС или рДНК	160–225 долл.	Технологии ОТ-ПЦР и рДНК позволяют определить концентрацию вируса. Количественный анализ методом ОТ-ПЦР менее чувствителен, чем качественный. Порог обнаружения — 500 МЕ/мл; у большинства больных хроническим гепатитом С вирусная нагрузка составляет 10^5 – 10^7 копий/мл. Уровень вирусной нагрузки не позволяет спрогнозировать течение заболевания, его измеряют для контроля эффективности проводимой терапии. Уровень РНК ВГС позволяет спрогнозировать ответ на терапию. Количественный анализ на РНК ВГС в основном вытеснил качественный, поскольку он обладает достаточной чувствительностью и сравним по стоимости.
Генотипирование	200–250 долл.	6 генотипов; в США преимущественно распространена инфекция вирусом генотипа 1 (70%), которая хуже всего поддается лечению. Инфекции, вызванные вирусами генотипов 2 и 3, лечению поддаются лучше.

Серологическое обследование на токсоплазмоз

Серологическое обследование на токсоплазмоз (обнаружение антител к токсоплазме класса IgG) рекомендуется проводить для дифференциального диагноза осложнений на ЦНС, для выявления показаний к профилактике токсоплазмоза (*Ann Intern Med* 1992; 117:163) и для консультирования серонегативных пациентов по поводу мер предосторожности (см. стр. 71). Рекомендуется определять титр антител класса IgG методом агглютинации, поскольку определять антитела класса IgM не имеет смысла, а реакция с красителем Сейбина-Фельдмана менее точна, чем реакция агглютинации. Антитела к токсоплазме обнаруживаются у 10–30% взрослого населения США; ежегодный уровень сероконверсии составляет около 1%. Чувствительность теста — 95–97%. Большинство случаев токсоплазмоза у пациентов со СПИДом представляют собой рецидивы латентной инфекции, которые развиваются у 20–47% больных с количеством лимфоцитов CD4 <100 мкл⁻¹, имеющих антитела к токсоплазме и не получающих профилактического лечения (*CID* 1992; 15:211; *CID* 2002; 34:103).

ВИЧ-инфицированным пациентам, у которых не были выявлены антитела к токсоплазме, серологическое обследование необходимо повторить при снижении количества лимфоцитов CD4 до 100 мкл⁻¹ и ниже, при условии, что пациент не принимает атоваквон или ТМП-СМК с целью профилактики пневмоцистной пневмонии (*Руководство NIH/CDC/IDSA 2008 г. по профилактике и лечению оппортунистических инфекций у ВИЧ-инфицированных взрослых и подростков* (www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/rr58e324a1.htm)). Кроме того, анализ на антитела следует назначать для исключения или подтверждения диагноза токсоплазменного энцефалита у пациентов, которым анализ на антитела раньше не выполнялся или же его результаты были отрицательными (см. стр. 455).

Серологическое обследование на ЦМВ-инфекцию (см. стр. 410–416)

Согласно *Руководству NIH/CDC/IDSA 2008 г. по профилактике и лечению оппортунистических инфекций у ВИЧ-инфицированных взрослых и подростков* (<http://aidsinfo.nih.gov/>), серологические анализы на ЦМВ-инфекцию не рекомендуются включать в план первичного обследования ВИЧ-инфицированных по причине их ограниченной клинической пользы для большинства пациентов, хотя отрицательный результат обычно позволяет исключить ЦМВ-инфекцию (*Ann Intern Med* 1993; 118:12; *Lancet* 2004; 363:2116). Результаты серологического обследования позволяют: 1) выявить серонегативных пациентов для консультирования по профилактике ЦМВ-инфекции (хотя основная тема консультирования заключается в пропаганде безопасного секса, как и при консультировании по поводу профилактики ВИЧ-инфекции); 2) оценить вероятность развития ЦМВ-инфекции на поздних стадиях ВИЧ-инфекции; 3) выявить серонегативных лиц, которые при плановых гемотрансфузиях должны получать кровь, не содержащую антитела к ЦМВ, и препараты крови с уменьшенным содержанием лейкоцитов (*JAMA* 2001; 285:1592). Антитела к ЦМВ обнаруживаются примерно у 50% взрослого населения США; у МСМ и ПИН антитела к ЦМВ обнаруживаются в 90% случаев (*JID* 1985; 152:243; *Am J Med* 1987; 82:593). Существует много методов выявления ЦМВ-инфекции, в том числе анализ на антиген р65, определение раннего антигена методом NASBA, посеvy крови и мочи и обнаружение ДНК ЦМВ методом ПЦР в крови и моче. Однако пока нет способа, позволяющего с достаточной точностью предсказать риск развития ЦМВ-инфекции у ВИЧ-инфицированных (*J Clin Microbiol* 2000; 38:563).

Дефицит глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (Г-6-ФД)

Дефицит Г-6-ФД — наследственное заболевание, выражающееся в предрасположенности к развитию гемолитической анемии после приема оксидантных препаратов, которые обычно назначаются пациентам с ВИЧ-инфекцией, таких как дапсон, примахин и ТМП-СМК. Более 150 патологических вариантов Г-6-ФД наследуются с X-хромосомой, но чаще всего встречаются Gd^A , который обнаруживается у 10% чернокожих мужчин и 1–2% чернокожих женщин, и Gd^{med} , распространенный в основном среди мужчин из средиземноморских стран (итальянцев, греков, сефардских евреев, арабов), уроженцев Индии и Юго-Восточной Азии. Большинство вариантов этого заболевания характеризуются умеренным гемолизом, который проходит без лечения, поскольку разрушаются только старые эритроциты и костный мозг в состоянии компенсировать потери эритроцитов даже при продолжении приема лекарственных препаратов, вызвавших гемолиз. Исключение составляет вариант Gd^{med} , при наличии которого может развиваться гемолитический криз, угрожающий жизни больного. Умеренный гемолиз, характерный для Gd^A , может стать клинически значимым при ВИЧ-инфекции, течение которой часто осложняется анемией, вызванной другими причинами. Тяжесть анемии также зависит от концентрации препарата в эритроцитах и от его окислительного потенциала. Чаще всего гемолиз провоцируют дапсон и примахин, реже сульфаниламиды. Дефицит Г-6-ФД может быть частичным, в этом случае противопоказания к терапии препаратами-оксидантами относительны. Возможны следующие варианты скринингового обследования: 1) определять активность Г-6-ФД всем пациентам при первичном обследовании; 2) определять активность Г-6-ФД только пациентам из группы риска по дефициту активности Г-6-ФД или перед назначением препаратов-оксидантов; 3) проводить обследование только в случаях развития гемолитической анемии после приема определенных препаратов. Обычно при такой форме гемолиза повышаются уровни непрямого билирубина и ЛДГ, снижается уровень гаптоглобина, обнаруживается метгемоглобинемия и ретикулоцитоз. В мазке периферической крови обнаруживаются типичные «укушенные» клетки (дегмациты). Во время гемолиза уровень Г-6-ФД обычно в норме, поскольку дефектные эритроциты разрушены, поэтому обследование следует проводить примерно через 30 дней после отмены препарата, спровоцировавшего гемолиз. Некоторые лаборатории сообщают результат, выраженный в единицах/грамм гемоглобина; если он меньше трех, это означает тяжелый дефицит у мужчин и гомозиготных женщин; другие лаборатории дают качественный результат.

HLA-B*5701

По-видимому, практически все истинные реакции гиперчувствительности (РГЧ) на абакавир (АВС) обусловлены генетической предрасположенностью — носительст-

вом аллеля HLA-B*5701 МНС (молекула гистосовместимости) I класса (*Proc Nat Acad Sci USA* 2004; 101:4180; *AIDS* 2005; 19:979). Результаты клинических исследований, проведенных в Западной Австралии (*CID* 2006; 43:99), Великобритании (*Antiviral Ther* 2006; 11:L11) и Франции (*JAIDS* 2007; 45:1), подтвердили сильную корреляцию РГЧ и носительства HLA-B*5701. Для окончательного подтверждения этой гипотезы было проведено крупное исследование PREDICT. Это было проспективное двойное слепое исследование, включавшее 1660 пациентов, которым планировалось назначение схемы АРТ с абакавиром. Пациентам проводили скрининговый анализ на HLA-B*5701 и рандомизировали на две группы: результаты скринингового анализа на HLA-B*5701 пациентов первой группы сообщались их лечащим врачам, а результаты второй группы — не сообщались (*NEJM* 2008; 358:568). РГЧ на абакавир подтверждалась вслепую при помощи объективного теста с накожным пластырем, который не выпускается в свободную продажу. Чувствительность анализа на HLA B*5701 составила 43% у пациентов с клиническими симптомами РГЧ на абакавир и 100% у пациентов с иммунологически подтвержденной РГЧ. Специфичность составила 97% и 98% соответственно (см. таблицу 2.20). Был сделан вывод, что прогностическая ценность отрицательного результата анализа на HLA-B*5701 составляет 100%, иными словами, отрицательный результат исключает возникновение РГЧ (с ограничениями, обусловленными размерами выборки). В литературе встречаются сообщения о редких случаях развития РГЧ у пациентов с отрицательными результатами скрининга на HLA-B*5701, но их достоверность не подтверждена (*AIDS* 2007; 21:2533). Анализ на HLA-B*5701 сейчас рекомендуется проводить всем пациентам перед началом приема абакавира.

Таблица 2-20. **Результаты исследования PREDICT, включавшего 1660 пациентов (*NEJM* 2008; 358:568).**

	Клинически предполагаемая РГЧ		Иммунологически подтвержденная РГЧ*	
	Положительный	Отрицательный	Положительный	Отрицательный
РГЧ*	30	36	23	0
Без РГЧ	19	792	25	794
ПЦ-ПР*	62%	-	46%	-
ПЦ-ОР*	-	96%	-	100%

* РГЧ = реакция гиперчувствительности; ПЦ-ПР = прогностическая ценность положительного результата; ПЦ-ОР = прогностическая ценность отрицательного результата

** Распространенность аллеля HLA-B* 5701 зависит от этнической принадлежности: белое население США — 8%, американцы азиатского происхождения — 1%, афроамериканцы — 2%, американцы латиноамериканского происхождения — 2%, население Великобритании — 8%, население Западной Европы — 7%, жители Китая и Японии — <1%, белое население Южной Америки — 5–7%, жители Австралии — 8%, население стран Африки южнее Сахары — <1%, население Средиземноморья — 1–2%, население Индии — 5–20% (*HIV Ther* 2003; 8:36)

Тест-системы для этого анализа есть в продаже, результат бывает положительным или отрицательным, время получения результата 1–2 недели, стоимость анализа в платных лабораториях составляет 90–125 долл.