

РЕЙНГАРДТ
Диана Эдуардовна

**МОЛЕКУЛЯРНО - ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ВИРУСА
ГЕПАТИТА С В УСЛОВИЯХ ПРИМЕНЕНИЯ ПРЕПАРАТОВ
ПРЯМОГО ПРОТИВОВИРУСНОГО ДЕЙСТВИЯ**

3.3.8. Клиническая лабораторная диагностика

1.5.10. Вирусология

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Работа выполнена в Федеральном бюджетном учреждении науки «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Пастера» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека

Научные руководители:

Семенов Александр Владимирович – доктор биологических наук;

Лялина Людмила Владимировна – доктор медицинских наук, профессор.

Официальные оппоненты:

Лиознов Дмитрий Анатольевич – доктор медицинских наук профессор ФГБУ «Научно-исследовательский институт гриппа имени А.А. Смородинцева» Министерства здравоохранения Российской Федерации, директор.

Кюрегян Карен Каренович – доктор биологических наук профессор ФБУН «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, лаборатория молекулярной эпидемиологии вирусных гепатитов отдела молекулярной диагностики и эпидемиологии, заведующий.

Ведущая организация: Федеральное бюджетное учреждение науки Нижегородский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. академика И.Н.Блохиной» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека.

Защита состоится «10» июня 2025 года в 14:30 часов на заседании диссертационного совета 04.1.001.01 на базе федерального государственного бюджетного учреждения «Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины имени А.М. Никифорова» МЧС России (194044, Санкт-Петербург, ул. Академика Лебедева, д. 4/2).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке федерального государственного бюджетного учреждения «Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины имени А.М. Никифорова» МЧС России по адресу: 197345, Санкт-Петербург, ул. Оптиков, д.54 и на сайте: <https://nrcerm.ru>.

Автореферат разослан «_____» _____ 2025 г.

Ученый секретарь

диссертационного совета

кандидат медицинских наук, доцент

Санников Максим Валерьевич

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

Согласно данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) в мире насчитывается более 50 млн. лиц, инфицированных вирусом гепатита С (ВГС) (WHO, 2023). Глобальное распространение гепатита С, неуклонно прогрессирующее течение инфекции, связанное с поражением печени, других органов и систем, требуют мультидисциплинарного подхода для разрешения этих проблем (Михайлов М.И., 2021). В Российской Федерации (РФ) по расчетным данным проживает более 1,94 млн. человек, страдающих хроническим гепатитом С (ХГС), ежегодно регистрируется около 40 тыс. впервые выявленных случаев заболевания (В.П. Чуланов и соавт., 2021). Учитывая актуальность проблемы, для обеспечения борьбы на международном уровне, ВОЗ была разработана глобальная стратегия элиминации вирусных гепатитов к 2030 году (WHO, 2016).

Прорывом в лечении пациентов с ХГС стала разработка противовирусных препаратов прямого действия (ПППД), направленных на продукты генов-мишеней NS3, NS5A, NS5B, что в конечном итоге приводит к остановке репликации и последующей элиминации вируса из организма (Aghemo, A. 2013). По сравнению с предыдущим режимом сочетанной терапии интерфероном с рибавирином, улучшились показатели достижения устойчивого вирусологического ответа (УВО) с 55% до 95%, сократилась продолжительность курса приема препаратов с 48 до 12 недель в зависимости от наличия осложнений (Fried M.F. et al., 2002.). Благодаря высокоэффективной противовирусной терапии (ПВТ) улучшилось качество жизни пациентов с ХГС, снизилась вероятность передачи инфекции за счет подавления вирусной нагрузки, что также является профилактическим аспектом в лечении таких пациентов. Однако, вследствие распространения ПВТ, ожидаемым обстоятельством стало появление лекарственной устойчивости вируса к терапии (Эсауленко Е.В. и соавт., 2022).

В 5% случаев лечение ПППД не приводит к устойчивому вирусологическому ответу, что может быть связано с феноменом лекарственной устойчивости ВГС. Анализ Европейской базы данных по резистентности к ПППД показал, что в 83% случаев при неэффективности терапии в одном или нескольких регионах-мишенях обнаруживались замены, связанные с резистентностью (J. Vermehren, 2016). Такие замены обычно развиваются во время лечения, но у некоторых пациентов они обнаруживаются до начала терапии, что существенно снижает потенциал действия ПППД (К.К. Кюрегян и соавт., 2020).

В РФ встречается рекомбинантная форма вируса RF1_2k/1b, впервые обнаруженная на территории СЗФО (Kalinina, O. et al., 2002). Присутствие в геноме ВГС признаков нескольких генотипов может существенно повлиять на выбор оптимальной схемы ПВТ, что диктует необходимость в осуществлении контроля всех этапов терапии для предотвращения отсутствия эффективности

лечения из-за различного действия противовирусных препаратов на разные генотипы (Georg von Massow G. Et al., 2019).

В настоящее время на Российском рынке не существует коммерческой тест-системы, позволяющей определять мутации фармакорезистентности вируса наряду с рекомбинантной формой ВГС. Вышесказанное обуславливает актуальность разработки способа детекции рекомбинантных форм и определения мутаций лекарственной устойчивости ВГС к ПППД с целью оптимизации ПБТ перед ее назначением и при отсутствии эффективности во время лечения, а также создание базы данных для хранения и дальнейшего анализа молекулярно-генетических особенностей выявляемых штаммов вируса.

Степень разработанности темы исследования

Изучение молекулярно-генетической структуры вирусов гепатитов в течение длительного времени привело к пониманию некоторых особенностей этих возбудителей, что в конечном итоге реализовалось в современность подходов к диагностике и лечению (А.В. Семёнов и соавт., 2020; Ю.В. Останкова и соавт., 2020).

На сегодняшний день разработаны подходы к определению мутаций лекарственной устойчивости (МЛУ) для оптимизации терапии ВИЧ-инфекции (Tzou P., 2020). Подобные методы для определения мутаций резистентности ВГС к ПБТ связаны с секвенированием продуктов генов NS3, NS5A, NS5B, являющихся мишенью для ПППД (Aghemo A., 2021). Однако, в РФ в настоящее время нет рутинного теста на резистентность ВГС к ПППД и определения рекомбинантных форм вируса, что затрудняет диагностику МЛУ и оптимизацию терапии пациентов с ХГС.

Имеются данные о распространенности МЛУ ВГС в России среди пациентов, не получавших лечение ПППД. Оценивалась распространенность первичной резистентности ВГС к ингибиторам NS5A среди пациентов, инфицированных вирусом генотипа 1b на территории РФ (К.А. Булатова, 2017). По результатам исследования, мутации, ассоциированные с устойчивостью, были выявлены в 26,4% случаев (n = 65). Часто встречается замена в 30 положении NS5A-белка – R30Q/H (9,3%). Согласно опубликованным данным, проводилась оценка распространенности таких мутаций в регионах Core и NS5A среди пациентов без предшествующей терапии на территории Московской области (Кичатова В.С., 2020). Полученные результаты показали, что в 35,5% (n = 322) случаев была обнаружена по крайней мере 1 мутация.

Однако, в настоящее время недостаточно изучен профиль резистентности ВГС среди различных групп пациентов, в связи с чем существует потребность в развитии системы хранения и анализа данных о пациентах с ХГС. Продолжение исследований по разработке противовирусных препаратов и увеличение доступности их применения диктует необходимость систематического получения данных о распространенности рекомбинантных форм вируса и мутаций резистентности

ВГС в регионах NS3, NS5A, NS5B среди различных групп населения.

Цель исследования: Определить профиль резистентности вируса гепатита С в условиях применения препаратов прямого противовирусного действия на основе молекулярно-генетического анализа рекомбинантных форм и мутаций лекарственной устойчивости вируса гепатита С к противовирусной терапии.

Задачи исследования:

1. Разработать способ детекции рекомбинантных форм вируса гепатита С, мутаций лекарственной устойчивости вируса к препаратам прямого противовирусного действия на основе молекулярно-генетического анализа регионов генома патогена;
2. Оценить валидность разработанного способа детекции мутаций лекарственной устойчивости вируса гепатита С к препаратам прямого противовирусного действия и определения рекомбинантных форм вируса на основе капиллярного секвенирования регионов Core, NS2, NS3, NS5A, NS5B;
3. Разработать базу данных для хранения и анализа информации о пациентах с хроническим гепатитом С, выявленных мутациях и генотипах вируса;
4. Определить генотипы и мутации лекарственной устойчивости вируса гепатита С к препаратам прямого противовирусного действия в группах пациентов с моноинфекцией и коинфекцией с ВИЧ с использованием разработанного способа детекции рекомбинантных форм вируса и мутаций лекарственной устойчивости.

Научная новизна исследования

Разработан способ детекции рекомбинантных форм вируса гепатита С и мутаций лекарственной устойчивости вируса к препаратам прямого противовирусного действия. Получены новые данные о молекулярно-генетических особенностях изолятов вируса гепатита С, циркулирующих на территории Северо-Западного федерального округа России.

Разработана база данных для хранения и анализа молекулярно-генетических особенностей вируса гепатита С.

Дополнено описание субгенотипического профиля изолятов вируса гепатита С, циркулирующих на территориях Гвинейской Республики, Социалистической Республики Вьетнам.

Получены новые данные об уровне первичных мутаций резистентности вируса гепатита С среди пациентов с хроническим гепатитом С, не получавших лечение препаратами прямого противовирусного действия на территории Северо-Западного федерального округа России.

Получены новые данные о распространенности мутаций резистентности вируса гепатита С у пациентов с рецидивом инфекции на терапии препаратами прямого противовирусного действия.

Впервые получены данные об уровне первичных мутаций резистентности вируса гепатита С в отношении препаратов прямого противовирусного действия среди пациентов с ВИЧ/ВГС с впервые

выявленной ВИЧ-инфекцией на территории Северо-Западного федерального округа России.

Впервые получены данные об уровне первичных мутаций резистентности вируса гепатита С к препаратам прямого противовирусного действия среди пациентов с ВИЧ/ВГС с неэффективной антиретровирусной терапией на территории Северо-Западного федерального округа России.

Определены первичные нуклеотидные последовательности регионов Core, NS2, NS3, NS5A, NS5B РНК вируса гепатита С изолятов, циркулирующих на территориях Северо-Западного федерального округа России, некоторых регионов Гвинейской Республики, Социалистической Республики Вьетнам. Нуклеотидные последовательности депонированы в международную базу данных GenBank.

Теоретическая и практическая значимость

Теоретическая значимость работы заключается в получении новых данных о генетическом разнообразии вируса гепатита С и распространенности геновариантов, циркулирующих на территории Северо-Западного федерального округа Российской Федерации, Гвинейской Республики, Социалистической Республики Вьетнам.

Практическая значимость работы заключается в разработке способа детекции мутаций лекарственной устойчивости вируса гепатита С к противовирусной терапии и рекомбинантных форм вируса на основе технологии ПЦР с последующим капиллярным секвенированием генов-мишеней Core, NS2, NS3, NS5A, NS5B. Предложенный способ способствует выбору оптимальной схемы начальной терапии пациентов с хроническим гепатитом С и принятию решения об альтернативной схеме лечения при отсутствии эффективности лечения.

Разработана база данных, способствующая хранению и анализу молекулярно-генетических особенностей изолятов вируса, циркулирующих на территории СЗФО.

Полученные результаты о распространенности клинически-значимых мутаций ВГС среди пациентов с неэффективной терапиейПППД, а также среди пациентов, не получавших терапию с моноинфекцией ВГС и коинфекцией ВИЧ/ВГС на территории СЗФО, позволяют своевременно внести коррективы в стратегию лечения.

На основании проведенного исследования показано, что применение разработанного способа детекции мутаций среди пациентов с ХГС позволит снизить вероятность назначения неоптимальной схемы терапии, предотвратить прогрессирование заболевания и развитие осложнений. Предложенный способ может быть использован как основа для создания диагностической тест-системы.

Методология и методы исследования

Диссертационное исследование посвящено изучению особенности генетического разнообразия изолятов на основе молекулярно-генетической характеристики ВГС в СЗФО, Гвинейской Республике и Социалистической

Республике Вьетнам.

Исследовательская работа осуществлялась с использованием современных молекулярно-биологических методов диагностики (ПЦР, секвенирование, генотипирование). В ходе проведения работы использованы диагностические тест-системы и оборудование в соответствии с инструкциями производителей и методическими рекомендациями.

Разработан способ детекции мутаций лекарственной устойчивости на основе ПЦР для определения рекомбинантных форм вируса гепатита С и идентификации мутаций резистентности вируса к препаратам. Анализ полученных нуклеотидных последовательностей проводился методом капиллярного секвенирования (по Сенгеру) с отсечкой в 15%, что соответствует рекомендациям Европейской Ассоциации по лечению гепатита С.

Разработана база данных для анализа и хранения информации о пациентах с хроническим гепатитом С и молекулярно-генетических особенностей вируса гепатита С на территории СЗФО.

Положения, выносимые на защиту:

1. Разработан способ детекции рекомбинантных форм и мутаций лекарственной устойчивости вируса гепатита С к препаратам прямого противовирусного действия на основе молекулярно-генетического анализа регионов генома патогена;

2. Разработанный способ детекции рекомбинантных форм и мутаций лекарственной устойчивости вируса гепатита С к препаратам прямого противовирусного действия позволяет определить клинически значимые мутации резистентности и рекомбинантные формы вируса в популяциях с различным генотипическим профилем возбудителя;

3. Определены мутации лекарственной устойчивости вируса гепатита С в группах пациентов с моноинфекцией хроническим гепатитом С и коинфекцией ВИЧ/ВГС, в том числе среди лиц, не получавших терапию препаратами прямого противовирусного действия; наибольшая частота выявления мутаций резистентности вируса гепатита С показана среди пациентов с вирусологическим прорывом на терапии препаратами прямого противовирусного действия и среди лиц с коинфекцией ВИЧ/ВГС с неэффективной антиретровирусной терапией.

Соответствие диссертации паспортам научных специальностей

Соответствие диссертации паспорту научной специальности 3.3.8. Клиническая лабораторная диагностика. Основные научные положения диссертации соответствуют п.3, п.5, п.11 паспорта специальности 3.3.8. Клиническая лабораторная диагностика.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности 1.5.10. Вирусология. Основные научные положения диссертации соответствуют п.4, п.8, п.10 паспорта специальности 1.5.10. Вирусология.

Степень достоверности и апробация результатов исследования

Достоверность полученных результатов исследований, проведенных автором, обеспечена репрезентативным объемом обследованных пациентов (2980), достаточным количеством выполненных наблюдений с использованием современных методов лабораторной диагностики и статистическим анализом данных, полученных в процессе проведения исследования.

Реализация результатов работы

Получен патент на изобретение Рейнгардт Д.Э., Останкова Ю.В., Семенов А.В., Тотолян А.А. Способ выявления рекомбинантов вируса гепатита С и мутаций лекарственной устойчивости вируса гепатита С к препаратам прямого противовирусного действия методом полимеразной цепной реакции с последующим секвенированием. Пат. 2824565 с1, 12.08.2024., заявка № 2023120037 от 27.07.2024. Патентообладатель Федеральное бюджетное учреждение науки «Санкт-Петербургский институт эпидемиологии и микробиологии им. Пастера».

Получено свидетельство о государственной регистрации базы данных Рейнгардт Д.Э., Щемелев А.Н., Останкова Ю.В., Семенов А.В., Тотолян А.А. База данных пациентов с хроническим гепатитом С в СЗФО. Свид. 2024624166 с1, 20.09.2024., заявка № 2024622961 от 08.07.2024. Патентообладатель Федеральное бюджетное учреждение науки «Санкт-Петербургский институт эпидемиологии и микробиологии им. Пастера».

Результаты диссертационного исследования внедрены в учебную и практическую деятельность Федерального бюджетного учреждения науки «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Пастера», а также в практическую деятельность Государственного бюджетного учреждения здравоохранения Ленинградской области «Центр по профилактике и борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями».

В международную базу данных GenBank депонирована 131 нуклеотидная последовательность фрагментов генома ВГС под номерами: PP319949.1 – PP319975.1, OR902064.1 – OR902105.1, OR91778.1 – OR917751.1., PP856523 – PP856542.

Результаты настоящего исследования приведены в монографиях: New features of current infections in the Republic of Guinea. Ed. by A-Yu. Popova. — St. Petersburg: St. Petersburg Pasteur Institute, 2020. — 212 p.:ill.

Россия-Гвинея: итоги и перспективы сотрудничества в области обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия населения / под ред. д-ра мед. наук, проф. А.Ю. Поповой, акад. РАН, д-ра мед. наук, проф. В.В. Кутырева. - Саратов: Амирит, 2020. - 272 с.

Россия-Африка: опыт работы Российско- Гвинейского научно-исследовательского центра эпидемиологии и профилактики инфекционных болезней/ под ред. д-ра мед. наук, проф. А.Ю. Поповой, акад. РАН, д-ра мед. наук, проф. В.В. Кутырева. – Элиста: ООО «Процвет», 2023. – 244 с.

Результаты настоящего исследования приведены в учебном пособии Диагностика ВИЧ-инфекции и вирусных гепатитов: мониторинг лекарственной резистентности в Социалистической Республике Вьетнам / Издательство ФБУН НИИЭМ имени Пастера. – СПб.: ФБУН НИИЭМ имени Пастера, 2022. – 148 с. Книга-аллигат.

Личный вклад автора

Автор совместно с научными руководителями провела определение темы исследования, целей и задач. Сбор биологического материала, планирование и проведение лабораторных исследований, статистическая обработка и анализ полученных результатов осуществлялись автором совместно с сотрудниками лаборатории иммунологии и вирусологии ВИЧ инфекции Федерального бюджетного учреждения науки «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Пастера» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, а именно Останковой Ю.В., а так же сотрудником института прикладной биологии Гвинеи в префектуре Киндия Бальде Тьерно Амаду Лабе. Разработка способа детекции рекомбинантных форм и мутаций лекарственной устойчивости вируса гепатита С к препаратам прямого противовирусного действия на основе молекулярно-генетического анализа регионов генома патогена проводилась совместно с заведующей лабораторией иммунологии и вирусологии ВИЧ-инфекции к.б.н. Останковой Юлией Владимировной.

Публикации результатов исследования

По материалам диссертации опубликовано 30 печатных работ, в том числе 11 статей в рецензируемых научных журналах, рекомендованных ВАК Министерства образования и науки Российской Федерации и входящих в индексируемые международные библиографические базы данных (Scopus – 8 и Web of Science – 3), из них 6 статей по специальностям диссертационного исследования (клиническая лабораторная диагностика и вирусология).

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 148 страницах машинописного текста, иллюстрирована 26 таблицами и 30 рисунками. Работа состоит из введения, обзора литературы, главы «Материалы и методы», трех глав с результатами собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций, дальнейших перспектив исследования и списка цитируемой литературы. Список литературы включает 188 источников, из них 48 отечественных и 140 иностранных авторов.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы

Материалом для исследования служили образцы венозной крови, полученные от пациентов без идентификационных данных. Характеристика

групп пациентов представлена в таблице 1. В ходе работы был выполнен ряд клинико-лабораторных исследований (таблица 2).

Таблица 1. Объем клинико-лабораторных исследований

Характеристика групп	Количество человек
Пациенты с ХГС из них:	235
Наивные без опыта лечения ПППД	204
Пациенты с ХГС с неэффективностью терапии ПППД	31
Пациенты с ВГС/ВИЧ из них:	448
Пациенты с впервые выявленной ВИЧ инфекцией	291
Пациенты с ВИЧ инфекцией с неуспешной АРТ	157
Условно-здоровые жители Южного Вьетнама	397
Жители Гвинейской Республики	2291
Всего	3371

Таблица 2. Количество клинико-лабораторных исследований

Название исследования	Количество человек
Выявление антител к ВГС в сыворотке крови	2655
Выявление антител и антигенов, в том числе р24 к ВИЧ-1, 2, в сыворотке крови	2442
Выявление антител IgG к ВГД в сыворотке крови	683
Выявление HBsAg в сыворотке крови	2890
Выявление РНК ВИЧ в плазме крови методом ПЦР	448
Выявление РНК ВГС в плазме крови методом ПЦР	2890
Определение вирусной нагрузки РНК ВГС методом ПЦР	377
Определение генотипа ВГС методом ПЦР	377
Секвенирование ВГС	388
Всего исследований	13150

Для амплификации продуктов ПЦР использовали специфические праймеры (Евроген, Россия), последовательность которых была подобрана с помощью литературных источников, а также разработана с применением программного инструмента для дизайна праймеров NCBI/Primer-BLAST

согласно оптимальным алгоритмам.

Первичный анализ нуклеотидных последовательностей, полученных в ходе секвенирования фрагментов проводили с помощью программы NCBI Blast в сравнении с представленными в международной базе данных GenBank нуклеотидными последовательностями референсных образцов. Подтверждение рекомбинантной формы вируса проводилось посредством множественного выравнивания аминокислотной последовательности полученного продукта амплификации региона NS2 с референсной последовательностью с помощью программного обеспечения Mega 11. Для определения мутаций лекарственной устойчивости ВГС кПППД использовалась программное обеспечение Geno2pheno HCV resistance.

Результаты собственных исследований

Для выявления рекомбинантных форм вируса и МЛУ ВГС кПППД был разработан способ детекции клинически-значимых нуклеотидных замен в регионах-мишенях для КПППД NS3, NS5A, NS5B наряду с определением рекомбинантной формы вируса с помощью сравнения генотипов, определенных в регионах Core и NS5B. Для ВГС генотипов 1, 2, 3 были разработаны две пары (внешние и внутренние) универсальных праймеров, фланкирующих регионы Core и NS5B. Для амплификации регионов NS3, NS5A были подобраны генотип-специфичные пары праймеров. Праймеры для амплификации региона NS2 были подобраны с учетом распространенности в СЗФО рекомбинантной формы 2k/1b.

Для определения рекомбинантных форм и МЛУ вируса, анализировались нуклеотидные последовательности регионов ВГС Core, NS2, NS3, NS5A, NS5B, полученные с использованием разработанного способа детекции МЛУ ВГС на основе двухэтапной ПЦР, а именно: продукт амплификации кодируемых регионами белков Core область 834-1328 нт, NS2 область 3002- 3644 нт, NS3 область 3312- 4341 нт, NS5A область 6129- 6949 нт, NS5B область 8007- 8634 нт, получали методом “гнездовой” (nested) ПЦР с использованием на каждом этапе пары праймеров в зависимости от определенного генотипа ВГС.

На первом этапе для определения генотипа и рекомбинантной формы вируса проводили амплификацию регионов Core и NS5B. Для определения МЛУ использовали праймеры, фланкирующие целевые регионы HCV NS3 out (1a, 1b, 2, 3a), HCV NS5A out (1a, 1b, 2, 3a), HCV NS5B out (1a, 1b, 2, 3a). При выявлении рекомбинантной формы вируса амплифицировали регион NS2 для определения точки рекомбинации. На рисунке 1 представлены этапы выполнения анализа.

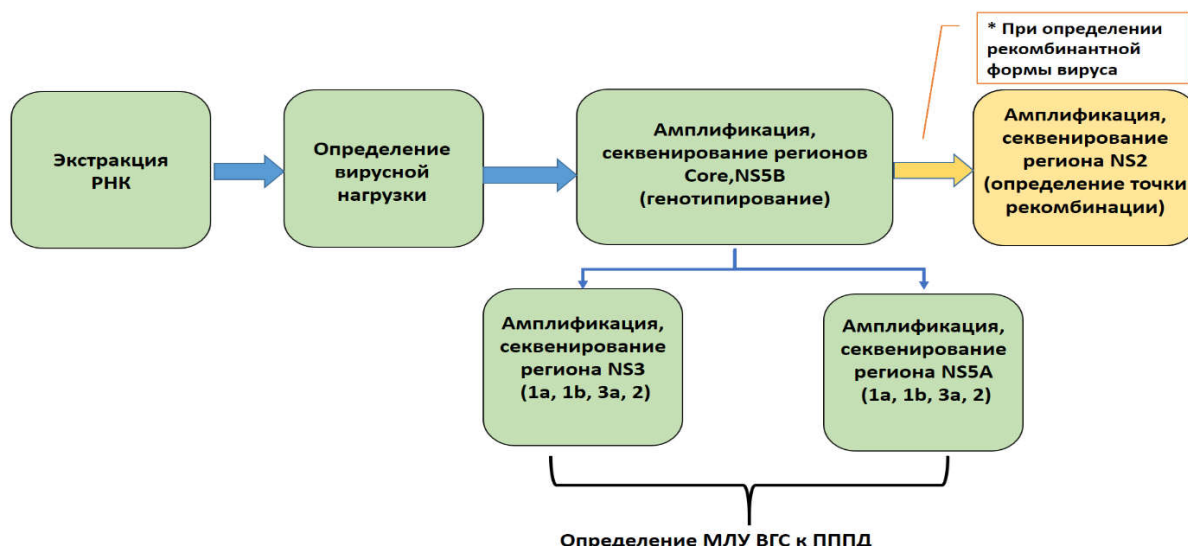


Рисунок 1. Этапы разработанного способа детекции рекомбинантных форм и мутаций лекарственной устойчивости вируса гепатита С к препаратам прямого действия

Для пополнения информации о мутационном профиле ВГС в РФ, в частности в СЗФО, апробация способа осуществлялась с помощью анализа образцов ВГС, геноварианты которого наиболее распространены на территории РФ – 1, 2, 3. При выполнении отработки методики были обнаружены 4 изолята, относящихся к рекомбинантной форме ВГС 2k/1b.

При исследовании образцов от пациентов с ХГС без опыта лечения ПППД мутации резистентности к препаратам были обнаружены в 8,59 % случаев (95% ДИ: 4,37%–14,86%). В регионе NS3 определено 5 значимых нуклеотидных замен, в регионах NS5A и NS5B 4 и 2 значимых нуклеотидных замен соответственно. Рекомбинантные формы вируса в исследуемой группе обнаружены не были.

При анализе образцов от пациентов с неэффективностью терапии ПППД мутации, ассоциированные с лекарственной устойчивостью, были обнаружены в 87% (95% ДИ: 70,17%–96,37%). Отсутствие мутаций резистентности в 4 случаях, предположительно, может быть связано с низкой приверженностью пациентов к терапии, назначением неверной схемы лечения либо реинфицированием другим штаммом вируса во время терапии. Рекомбинантные формы вируса в исследуемой группе обнаружены не были.

В нескольких случаях помимо МЛУ к одному или нескольким препаратам, которые на момент терапии принимал пациент, были найдены мутации, ассоциированные с резистентностью к другим ингибиторам. Наличие мутаций фармакорезистентности к препаратам, не входящим в текущую терапию, в перспективе могут стать причиной отсутствия ответа на последующее лечение, в состав которых будут входить данные ингибиторы.

Количество пациентов, получавших комбинацию ингибиторов СОФ + ДАК, в данном исследовании составило 61,3% (n = 19). Данный препарат

является пангенотипным и обладает высоким генетическим барьером в отношении фармакорезистентности, однако, результаты исследования демонстрируют наличие мутаций резистентности в геноме ВГС, обуславливающих отсутствие ответа на данную терапию. Таким образом, тестирование на резистентность вируса перед назначением даже пангенотипных препаратов является актуальным.

Частота выявления генотипов ВГС, а также распространенность МЛУ среди пациентов с ХГС представлена на рисунках 2 и 3.

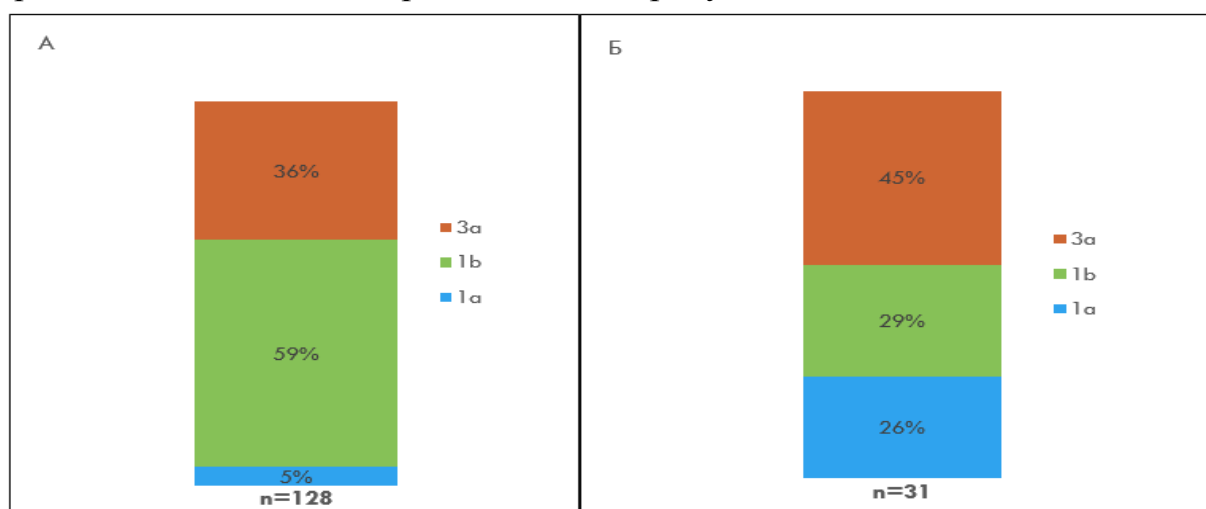


Рисунок 2. Частота выявления генотипов ВГС среди пациентов с ХГС без предшествующего опыта лечения (А) и с неэффективностью леченияПППД (Б)

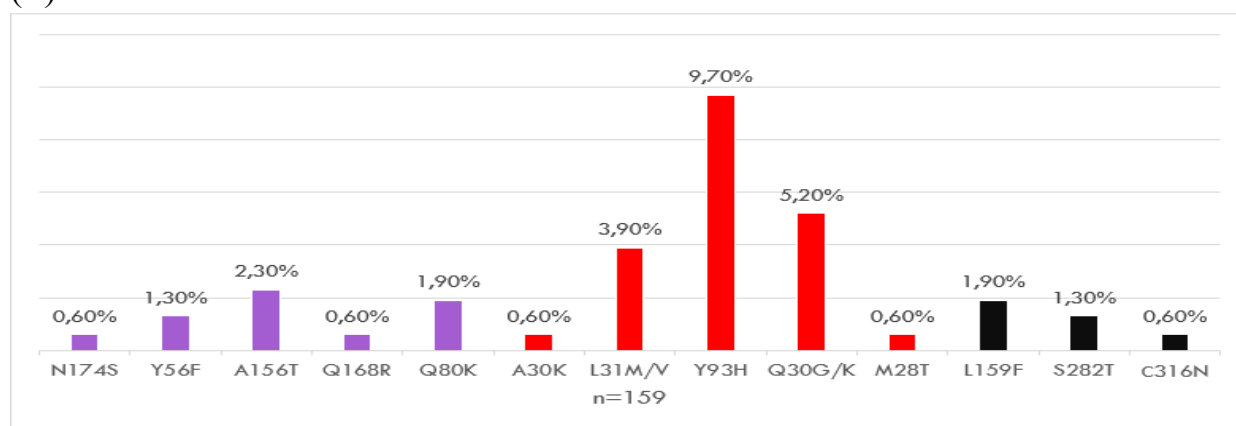


Рисунок 3. Распространенность МЛУ среди популяции пациентов с ХГС. мутации в области NS3, мутации в области NS5A, мутации в области NS5B

При проведении сравнительного анализа показаны достоверные различия в распространенности МЛУ среди пациентов с неэффективностью терапии и пациентов, без предшествующего лечения: $\chi^2=132,527$ при уровне значимости $p < 0,01$. Таким образом, несмотря на появление и расширение спектра прямых противовирусных препаратов, существует проблема лекарственной устойчивости, которая продолжает проявляться отсутствием терапевтической эффективности у пациентов с ХГС.

Анализ мутаций резистентности среди пациентов с коинфекцией

ВИЧ/ВГС с впервые выявленной ВИЧ инфекцией, показал наличие нуклеотидных замен, ассоциированных с устойчивостью ВГС к ПППД в 12,64% случаев (95% ДИ: 6,48%–21,50%). В регионе NS3 – 3 значимых нуклеотидных замены, в регионах NS5A и NS5B 3 и 8 значимых нуклеотидных замен соответственно. Рекомбинантные формы вируса в исследуемой группе обнаружены не были.

При анализе мутаций резистентности ВГС среди пациентов с коинфекцией ВИЧ/ВГС неэффективностью АРТ нуклеотидные замены, ассоциированные с устойчивостью ВГС к ПППД, были обнаружены в 26,53% (95% ДИ: 18,12%–36,41%). В регионе NS3 – 6 значимых нуклеотидных замен, в регионах NS5A и NS5B 15 и 10 значимых нуклеотидных замен соответственно. Рекомбинантные формы вируса в исследуемой группе обнаружены не были.

Частота выявления генотипов ВГС, а также распространенность МЛУ среди пациентов с коинфекцией ВИЧ/ВГС представлена на рисунках 4 и 5.

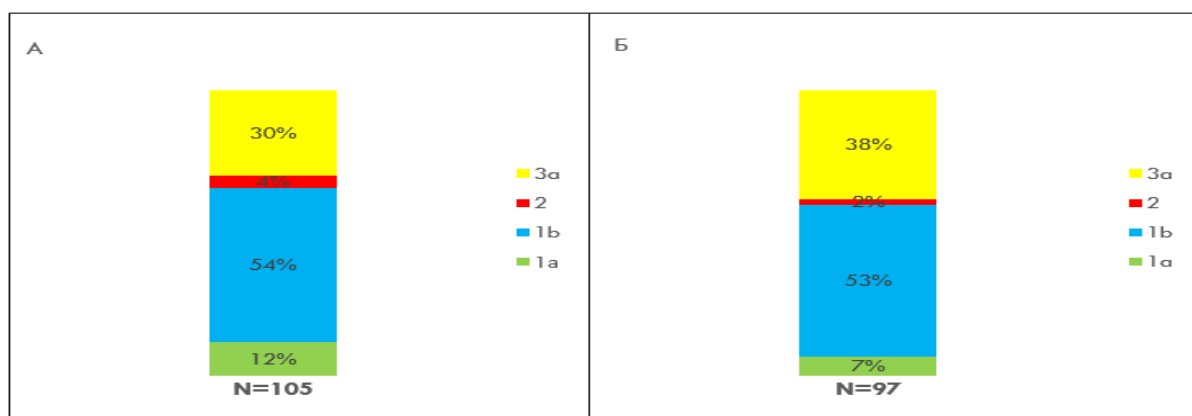


Рисунок 4. Частота выявления генотипов ВГС среди пациентов с впервые выявленной ВИЧ инфекцией(А) и с неэффективной АРТ (Б)

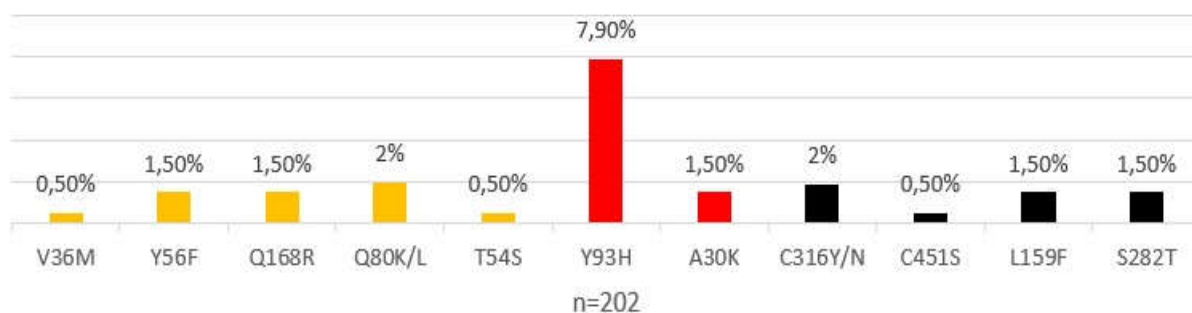


Рисунок 5. Распространенность МЛУ среди популяции пациентов с ВИЧ инфекцией. мутации в области NS3, мутации в области NS5A, мутации в области NS5B

Сравнительный анализ распространенности МЛУ ВГС среди пациентов с впервые выявленной ВИЧ инфекцией и среди пациентов с неэффективностью АРТ показал достоверные различия: $\chi^2=20,358$ при уровне значимости $p < 0,001$.

При оценке групп пациентов с коинфекцией ВИЧ/ВГС, резистентные штаммы ВГС встречались у 12,64% среди пациентов с впервые выявленным ВИЧ и 26,53% среди пациентов с неэффективной АРТ соответственно. Причиной такого распределения мутаций фармакорезистентности ВГС может быть длительная циркуляция вируса среди пациентов с рискованным поведением (МСМ и ПИН) и реинфицирование вариантами вируса, связанными с резистентностью.

В созданной в рамках данного исследования базе данных (БД) хранится и анализируется информация о пациентах с ХГС в СЗФО. Разработанная БД может использоваться для регистрации пациентов как с впервые выявленной ВГС инфекцией, так и после реинфицирования другим штаммом вируса и рецидива заболевания. Анализ нуклеотидных последовательностей ВГС, вносимых в БД, позволяет выявлять рекомбинантные формы вируса и МЛУ ВГС, тем самым фиксировать случаи фармакорезистентности и оптимизируя выбор терапии. Информация из БД может способствовать изучению молекулярно-генетических характеристик ВГС и проведению эпидемиологических исследований. В БД вносятся анамнестические данные о пациентах и результаты молекулярно-генетических исследований.

«База данных пациентов с хроническим гепатитом С в СЗФО» представлена в формате Microsoft Access. Данные вносятся в главную форму «Пациенты», состоящую из полей «Идентификатор», «ФИО», «Дата рождения», «Место проживания», «Дата постановки диагноза ХГС», «Дата выявления РНК ВГС», «Шифр контингента». В вспомогательную таблицу «Направления» вносятся данные о заболевании, такие как стадия и фаза ХГС, вирусная нагрузка, генотип и субгенотип вируса, данные о рецидиве и реинфекции, текущая схема противовирусной терапии, продолжительность и степень приверженности к ней, а также наличие предыдущего опыта лечения.

При сравнении мутационного профиля между пациентами с моноинфекцией ВГС и коинфекцией ВИЧ/ВГС обращает на себя внимание тот факт, что во второй группе мутации резистентность к ингибиторам NS5B встречаются значительно чаще: 2,55% (95% ДИ: 0,94%-5,47%) среди общей группы пациентов с моноинфекцией ВГС и 4,02% (95% ДИ: 2,40%-6,28%) среди общей группы пациентов с коинфекцией ВИЧ/ВГС соответственно. По данным литературы, клинически-значимыми считаются замены, в которых показатель концентрации полумаксимального ингибирования (IC50) больше в 10 и более раз ($> 10 \times$ FC (кратность резистентности, fold change)) по сравнению с диким типом вируса. Таким образом, значимыми аминокислотными позициями в белке NS3 являются Q80K (для субтипа 1a), для генотипа 1 - R155, A156, D168; 4 аминокислотные позиции в белке для субтипа 1a - NS5A: M28, Q30, L31, Y93, для субтипа 1b - L31, Y93, для генотипа 3- A30, Y93 и ни одной клинически значимой аминокислотной позиции в белке NS5B. Однако, в исследовании K. Adeboyejo было выявлено, что 75% пациентов с нуклеотидной заменой C316N/Y в гене NS5B с предшествующим опытом лечения ПЕГ-ИНФа не ответили на лечениеПППД.

Таким образом, необходимо дальнейшее исследование феномена резистентности среди разных групп пациентов для подтверждения и обновления информации по мутациям в регионах-мишенях вируса.

Мутационный профиль двух групп, пациентов с моноинфекцией ВГС и коинфекцией ВГС/ВИЧ особых различий при анализе не выявил. Это свидетельствует о смешанной циркуляции резистентных штаммов в обеих исследуемых группах. Для оценки филогенетических взаимоотношений между изолятами ВГС, полученных от разных групп пациентов с ВГС на территории СЗФО, были проанализированы связи между нуклеотидными последовательностями генов-мишеней (рис.8).

Согласно филогенетическому анализу исследованных изолятов из СЗФО от ВГС инфицированных лиц как с коинфекцией ВИЧ, так и с моноинфекцией ВГС, показана смешанная циркуляция вируса без отдельной кластеризации между штаммами, полученных как от пациентов с прорывом на терапииПППД или «наивных» в отношении последней, так и между штаммами от сочетанной инфекции ВИЧ/ВГС с впервые выявленным ВИЧ и неэффективностью АРТ. Обращает на себя внимание ряд кластеров, выявленных среди лиц с коинфекцией ВИЧ/ВГС с неэффективной АРТ. Выявление таких групп предположительно может быть связано с тем, что пациенты с неэффективной терапией в отношении ВИЧ инфекции, могут оказаться лицами с низкой приверженностью к лечению, лицами с рискованным поведением (ПИН, МСМ), в том числе из мест заключения, а так же их половые партнеры. В связи с этим высока вероятность перекрёстного заражения ВГС как при употреблении внутривенных наркотических средств, так и при незащищенном половом акте. Предположительно, полученные штаммы могут циркулировать только в данной среде, в связи с чем необходимо в дальнейшем более пристальное наблюдение за группой пациентов с коинфекцией ВИЧ. Предотвращение распространения коинфекции ВИЧ/ВГС с потенциальным резистентным ВГС возможно реализовать благодаря выявлению источника инфекции для контроля распространения и своевременного предотвращения развития заболеваний.

В остальных случаях узкая кластеризация между обследуемыми группами отсутствует, наблюдается ряд мелких кластеров, представленных во всех анализируемых генотипах (1a, 1b, 3a, 2a, 2k). Данный феномен связан с географической гомогенностью представленных изолятов, т.к. все образцы были получены из одного региона (СЗФО, преимущественно г. Санкт-Петербург). Таким образом, представленные штаммы, выделенные как от пациентов с моноинфекцией ВГС, так и с коинфекцией с ВИЧ, циркулируют в обеих представленных группах.

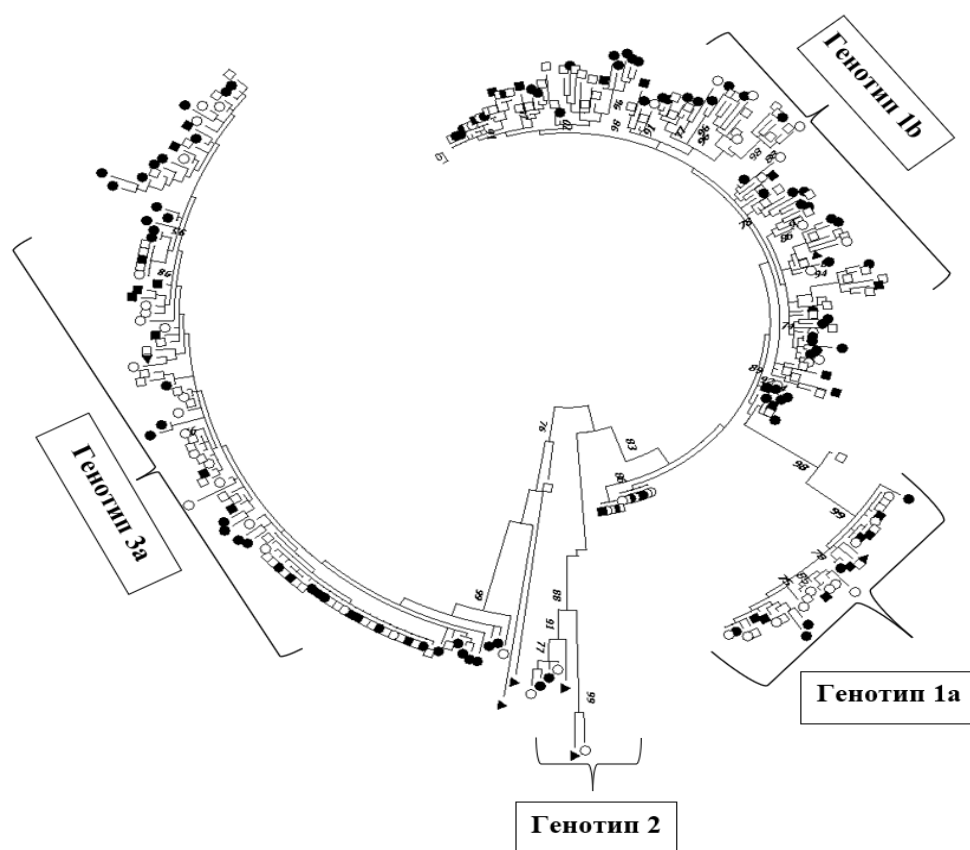


Рисунок 8. Филогенетический анализ нуклеотидных последовательностей региона NS5B ВГС, полученных от пациентов с ВГС и ВГС/ВИЧ, проживающих на территории СЗФО в сравнении с представленными в международной базе данных GenBank референсными последовательностями. Референсные последовательности обозначены . Последовательности от пациентов с ВГС без опыта терапии обозначены . Последовательности от пациентов с ВГС с прорывом на терапии ПППД обозначены . Последовательности от пациентов с коинфекцией ВИЧ/ВГС с впервые выявленным ВИЧ обозначены . Последовательности от пациентов с коинфекцией ВИЧ/ВГС с неэффективной АРТ обозначены

Для оценки валидности разработанного способа среди геновариантов ВГС в Республике Вьетнам были представлены образцы сыворотки крови от 397 условно здоровых лиц, проходящих обследование на базе Российско-Вьетнамского научного исследовательского центра в г. Хошимин. При исследовании клинических образцов плазмы крови на наличие РНК ВГС в 7 образцах был обнаружен ВГС, что составило 1,76% (95% ДИ: 0,71%- 3,6%). Для дальнейшего анализа было проведено секвенирование участков вируса NS5B генотипирования 7 образцов (100%) от группы практически здоровых пациентов. Филогенетический анализ показал, что все изоляты условно здоровой группы относятся к генотипу 6, подтипу 6a (100%).

Для оценки реализации валидности разработанного способа среди

геновариантов ВГС в Гвинейской Республике в исследованной группе была проанализирована плазма крови 1810 жителей Гвинейской Республики, проживающих шести городах Республики Гвинея: Киндия, Конакри, Канкан, Фарана, Масента, Пита. РНК ВГС была обнаружена в 9 случаях у женщин (0,5 %; 95 % ДИ: 0,2%–0,9 %) и у всех анти-HCV-положительных партнеров-мужчин (3,3 %, 95 % ДИ: 1,9–5,4 %). Вирусная нагрузка ВГС превышала 1000 МЕ/мл у всех женщин (100%, 95%ДИ: 66,4-100%) и только в двух случаях у мужчин (12,5%, 95%ДИ: 1,6-38,4%).

Фрагменты генов HCV NS5A, NS5B и NS3 были секвенированы для 11 образцов. Для генотипирования образцов проведен филогенетический анализ на основе нуклеотидной последовательности гена ВГС NS5B. Все выявленные в настоящей работе изоляты ВГС были отнесены к генотипу 2. При субгенотипировании были определены четыре различных субгенотипа (с, j, k, q) и неопределяемого варианта генотипа 2 всего лишь среди одиннадцати выявленных изолятов ВГС.

При анализе последовательностей целевых генов значимых нуклеотидных замен выявлено не было. Отсутствие МЛУ связано, по всей видимости, с низкой представленностью вируса в регионе, а также практически с полным отсутствием в стране терапии, направленной на лечение ВГС-инфицированных лиц.

ВЫВОДЫ

1. Разработан способ детекции рекомбинантных форм и мутаций лекарственной устойчивости вируса гепатита С к препаратам прямого противовирусного действия на основе молекулярно-генетического анализа регионов-мишеней вируса, позволяющий определять клинически значимые нуклеотидные замены, приводящие к резистентности вируса к терапии препаратами прямого противовирусного действия, а также рекомбинантные формы вируса.

2. Показана валидность разработанного способа: определены первичные и возникающие на фоне приема терапии препаратов прямого противовирусного действия мутаций резистентности и рекомбинантные формы вируса гепатита С.

3. Разработана база данных «База данных пациентов с хроническим гепатитом в СЗФО», позволяющая хранить и систематизировать данные о пациентах с хроническим гепатитом С.

4. При оценке распространенности мутаций лекарственной устойчивости среди пациентов с ХГС без предшествующей терапииПППД в 8,6% случаев были обнаружены клинически значимые нуклеотидные замены. Для ВГС субгенотипа 1a были обнаружены следующие мутации в регионах-мишенях: NS3 (резистентность к СИМ и БОЦ) - Q80K, N174S; для субгенотипа 1b: NS3 (резистентность к БОЦ, ГРА) – Y56F, A156T; NS5A (резистентность к ДАК, ЭЛБ, ЛЕД) – Y93H, L31M; NS5B (резистентность к СОФ) – L159F; для субгенотипа 3a: NS3 (резистентность в отношении ГЛЕ и

ВОК) – Q168R; NS5A (резистентность к ДАК, ЭЛБ, ЛЕД) – А30К, Y93Н; NS5В (резистентность к СОФ) – S282Т.

5. Среди пациентов с отсутствием эффективности лечения ПППД клинически значимые нуклеотидные замены лекарственной устойчивости установлены в 87% случаев. Основная схема терапии (61,3%) была представлена комбинацией Софосбувир + Даклатасвир. Во всех выявленных случаях мутации приводили к устойчивости вируса по крайней мере к одному препарату, входящему в состав текущей схемы терапии пациента.

6. При оценке распространенности мутаций лекарственной устойчивости среди пациентов с коинфекцией ВИЧ/ВГС с впервые выявленной ВИЧ инфекцией в 12,6% случаев были обнаружены клинически значимые нуклеотидные замены. В регионе NS5В ВГС субгенотипа 1а обнаружена мутация С326У, приводящая к устойчивости в отношении препарата ДАК. Для ВГС субгенотипа 1b были показаны следующие варианты нуклеотидных замен: в регионе NS3 – Y56F (устойчивость к ГРА); в регионе NS5А – Y93Н (устойчивость к ДАК, ЭЛБ, ЛЕД); в регионе NS5В – С316N/Y (устойчивость к СОФ и ДАС). Для ВГС субгенотипа 3а были показаны следующие варианты замен: в регионе NS3 – Q186R (устойчивость к ГЛЕ и ВОК); в регионе NS5А – А30К (устойчивость к ДАК, ЭЛБ и ЛЕД); для региона NS5В – С316N (устойчивость к СОФ).

7. Среди пациентов с коинфекцией ВИЧ/ВГС с неэффективной АРТ значимые нуклеотидные замены лекарственной устойчивости обнаружены в 26,5%. Для ВГС субгенотипа 1а характерными оказались следующие мутации: для региона NS3 – Т54S, Q80L (данные замены являются маркерами устойчивости в отношении препаратов БОЦ и ТЕЛ); для региона NS5В – L159F, С316У (данные замены являются маркерами устойчивости в отношении СОФ). Для ВГС субгенотипа 1b были выявлены следующие замены: NS3 – V36M, Y56F, Q80K (устойчивость к БОЦ, ГЛЕ, ГРА); NS5А – Y93Н (устойчивость к ДАК, ЭЛБ, ЛЕД); NS5В – С316N/Y, L159F (устойчивость к СОФ). Для ВГС субгенотипа 3а были выявлены следующие замены: в регионе NS3 – Q186R, Q80K (маркеры устойчивости к препаратам ГЛЕ и ВОК); в регионе NS5А – А30К, Y93Н (маркеры устойчивости к препаратам ДАК, ЛЕД, ОМБ); в регионе NS5В – S282Т (маркер устойчивости к препарату СОФ).

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

Рекомендуется специалистам КЛД использование разработанного способа детекции рекомбинантных форм и мутаций лекарственной устойчивости ВГС к ПППД.

Рекомендуется врачам-инфекционистам, врачам-вирусологам назначение анализа на выявление рекомбинантных форм и мутаций лекарственной устойчивости ВГС к ПППД с целью определения устойчивых штаммов ВГС у пациентов перед назначением терапии для выбора оптимальной схемы лечения.

Рекомендуется врачам-инфекционистам, врачам-вирусологам

назначение анализа на выявление рекомбинантных форм и мутаций лекарственной устойчивости ВГС кППД с целью определения причины отсутствия устойчивого вирусологического ответа во время лечения у пациентов с неэффективностью терапии и определения корректной повторной схемы лечения.

Рекомендуется врачам-инфекционистам, специалистам КЛД, врачам-эпидемиологам использование разработанной базы данных «База данных пациентов с ХГС в СЗФО» для систематизации и хранения полученных результатов.

ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕГО ИССЛЕДОВАНИЯ

Необходимо дальнейшее изучение мутационного профиля изолятов ВГС в разрезе лечения ПППД среди пациентов с ХГС не только в СЗФО, но и во всех регионах Российской Федерации. Необходимо развитие системы надзора за лекарственной устойчивостью и эпидемиологическим надзором распространенности инфекции в стране в целом. Для назначения адекватной схемы лечения как первой, так и второй линии терапии при отсутствии возможности повсеместного применения пангенотипных препаратов с высоким резистентным барьером, целесообразно проводить анализ на резистентность до назначения лечения и после неэффективности последнего. В дальнейшем исследовании планируется усовершенствование методики для анализа мутационного профиля ВГС генотипов 4-8.

Статьи в научных изданиях, входящих в перечень рецензируемых научных изданий, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ, а также международных базах данных, для опубликования основных научных результатов диссертации по специальностям 3.3.8. Клиническая лабораторная диагностика и 1.5.10. Вирусология:

1. Валутите, Д.Э. Выявление мутаций лекарственной устойчивости вируса гепатита С у пациентов с неэффективной терапией препаратами прямого противовирусного действия / Д.Э. Валутите, А.В. Семенов, Ю.В. Останкова, К.В. Козлов, А.Г. Борисов, В.Д. Назаров, А.А. Тотолян // *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. – 2021. – Т. 98, № 4. – С. 440-449.
2. Бумбали, С. Значимость лабораторной диагностики парентеральных вирусных гепатитов в Гвинейской Республике / С. Бумбали, Е.Н. Серикова, А.В. Семенов, Ю.В. Останкова, Д.Э. Валутите, А.Н. Щемелев, Е.Б. Зуева, Т.А. Балде, Р.Р. Баимова, А.А. Тотолян // *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. – 2021. – Т. 98, № 1. – С. 18-27.
3. Останкова, Ю.В. Распространенность маркеров вирусов гепатита В и С среди условно здоровых жителей южного региона Социалистической Республики Вьетнам / Ю.В. Останкова, А.В. Семенов, Е.Б. Зуева, Д.Э. Валутите, Е.Н. Серикова, А.Н. Щемелев, S. Boumbaly, T.A. Balde // *Инфекция и иммунитет*. – 2021. – Т. 11, № 6. – С. 1131-1140.
4. Рейнгардт, Д.Э. Распространенность мутаций лекарственной устойчивости вируса гепатита С среди пациентов с рецидивом заболевания на терапии препаратами прямого противовирусного действия / Д.Э. Рейнгардт, Ю.В. Останкова, Л.В. Лялина, Е.В. Ануфриева, А.В. Семенов, А.А. Тотолян // *ВИЧ инфекция и иммуносупрессии*. – 2023. – Т. 15, № 4. – С. 86-93.

5. Рейнгардт, Д.Э. Мутации лекарственной устойчивости вируса гепатита С у ВИЧ-инфицированных лиц / Д.Э. Рейнгардт, Ю.В. Останкова, Е.В. Ануфриева, Л.В. Лялина, А.В. Семенов, А.А. Тотолян // *Инфекция и иммунитет*. – 2024. – Т. 14, №1. – С. 86-94.

6. Рейнгардт, Д.Э. Способ детекции значимых нуклеотидных замен в генах-мишенях на базе методики выявления мутаций резистентности вируса гепатита С / Д.Э. Рейнгардт, Ю.В. Останкова, Е.В. Ануфриева, А.В. Семенов, А.А. Тотолян // *Клиническая лабораторная диагностика*. – 2024. – Т.69, №4. – С. 150-158.

Статьи в научных изданиях, входящих в перечень рецензируемых научных изданий, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ, а также международных базах данных, для опубликования основных научных результатов диссертации по другим специальностям:

7. Останкова, Ю.В. Первичные мутации лекарственной устойчивости вируса гепатита С у пациентов с впервые выявленной ВИЧ-инфекцией / Ю.В. Останкова, Д.Э. Валутите, Е.Б. Зуева, Е.Н. Серикова, А.Н. Щемелев, S. Boumbaly, Т.А. Balde, А.В. Семенов // *Проблемы особо опасных инфекций*. – 2020. – №3. – С. 97–105.

8. Хорькова, Е.В. Актуальные вопросы эпидемиологического надзора за хроническими вирусными гепатитами В, С, D и гепатоцеллюлярной карциномой на региональном уровне / Хорькова Е.В., Лялина Л.В., Михайлова О.М., Ковеленов А.Ю., Останкова Ю.В., Валутите Д.Э., Стасишкис Т.А., Цветков В.В., Новак К.Е., Ришняк О.Ю., Крицкая И.В., Буц Л.В., Тягунов Д.С. // *Здоровье населения и среда обитания*. – 2021. – Т. 29, № 8. – С. 76–84.

9. Balde, T. A. L. Сравнительный анализ вертикального риска передачи некоторых гемоконтактных инфекций в Гвинейской Республике / Т. А. L. Balde, S. Boumbaly, Е. Н. Серикова, Д.Э. Валутите, А.Н. Щемелев, Ю.В. Останкова, Е.Б. Зуева, А.В. Семенов // *Проблемы особо опасных инфекций*. – 2021. – № 1. – С. 87-94.

10. Valutite, D. Distribution of Primary Resistance Mutations in Saint Petersburg in Patients with Chronic Hepatitis C / D. Valutite, Y. Ostankova, A. Semenov, L.V. Lyalina, A.A. Totolian // *Diagnostics*. – 2022. – Vol. 12, № 5. – P. 1054 – 1067.

11. Balde, T. A. L. Распространенность маркеров некоторых гемоконтактных вирусных инфекций у беременных женщин и их партнеров в Гвинейской Республике / Т.А.Л. Balde, Ю.В. Останкова, S. Boumbaly, Д.Э. Валутите, В.С. Давыденко, А.Н. Щемелев, Е.Н. Серикова, Е.Б. Зуева, Е.В. Ануфриева, Е.В. Астапчик, О.В. Арбузова, В.В. Скворода, Д.А. Васильева, Е.В. Эсауленко, В.А.В. Семенов, А.А. Тотолян // *Проблемы особо опасных инфекций*. – 2023. – № 3. – С. 51-58.

Тезисы докладов в материалах конференций и симпозиумов:

12. Valutite, D.E. Development and approbation method of identification mutations the resistance of the hepatitis c virus to direct-acting antiviral agents (DAAS) / D.E. Valutite, Y.V. Ostankova // *Инфекция и иммунитет*. – 2018. – Т. 8, №4. – С. 593-594.

13. Валутите, Д.Э. Выявление мутаций лекарственной устойчивости вируса гепатита С / Д.Э. Валутите // Материалы VIII международного молодежного медицинского конгресса (Санкт-Петербург, 04-06 декабря 2019 г.). – СПб. – 2019. – С. 155.

14. Валутите, Д.Э. Апробация молекулярно-генетического метода выявления мутаций лекарственной устойчивости вируса гепатита С / Д.Э. Валутите // Материалы VIII международного молодежного медицинского конгресса (Санкт-Петербург, 04-06 декабря 2019 г.). – СПб. – 2019. – С. 181.

15. Валутите, Д.Э. Первичная мутация фармакорезистентности А30К у АРВТ-наивного пациента с хроническим вирусным гепатитом С / Д.Э. Валутите, Ю.В. Останкова, А.В. Семенов // Материалы Всероссийского терапевтического конгресса с международным участием «Боткинские чтения» (Санкт-Петербург, 29-30 апреля 2020 г.). – СПб. – 2020. – С. 46-47.

16. Валутите, Д.Э. Выявление мутации лекарственной устойчивости Y93H вируса гепатита С к препаратам прямого противовирусного действия / Д.Э. Валутите, Ю.В. Останкова, А.В. Семенов // Журнал инфектологии. Материалы VI конгресса Евро-азиатского общества по инфекционным болезням. – 2020. – Т.12, № 2. – С.40.
17. Валутите, Д.Э. Миссенс-мутация в регионе неструктурного белка NS5A вируса гепатита С - устойчивость к препарату первой линии терапии / Д.Э. Валутите, Ю.В. Останкова, А.В. Семенов // Журнал инфектологии. Материалы VI конгресса Евро-азиатского общества по инфекционным болезням. – 2020. – Т.12, № 2. – С.40.
18. Валутите, Д.Э. Первичная мутация фармакорезистентности Q80K у APBT-наивного пациента с хроническим вирусным гепатитом С / Д.Э. Валутите, Ю.В. Останкова, А.В. Семенов // Журнал инфектологии. Материалы VI конгресса Евро-азиатского общества по инфекционным болезням. – 2020. – Т.12, № 2. – С.40.
19. Валутите, Д.Э. Молекулярно-генетические маркеры лекарственной резистентности вируса гепатита С / Д.Э. Валутите, Ю.В. Останкова, А.В. Семенов // Журнал инфектологии. Материалы VI конгресса Евро-азиатского общества по инфекционным болезням. – 2020. – Т.12, № 2. – С.112.
20. Семенов, А.В. Выявление мутаций лекарственной устойчивости вируса гепатита С в эру безинтерфероновой терапии / А.В. Семенов, Д.Э. Валутите, Ю.В. Останкова // Материалы XII Ежегодного Всероссийского конгресса по инфекционным болезням с международным участием «Инфекционные болезни в современном мире: эпидемиология, диагностика, лечение и профилактика» (Москва, 07-09 сентября 2020г.). – М. – 2020. – С. 205.
21. Валутите, Д.Э. Выявление мутаций лекарственной устойчивости вируса гепатита С / Д.Э. Валутите // Проблемы медицинской микологии. - 2020. – Т.22, № 3. – С.57.
22. Валутите, Д.Э. Мутации фармакорезистентности у терапевтически наивных и ранее леченых пациентов с хроническим вирусным гепатитом С / Д.Э. Валутите, Ю.В. Останкова, Т.А. Стасишкис // Материалы Всероссийского терапевтического конгресса с международным участием «Боткинские чтения» (Санкт-Петербург, 23-24 апреля 2021г.). – СПб. – 2021. – С. 55-56.
23. Семенов, А.В. Молекулярно-генетические маркеры лекарственной резистентности вируса гепатита С / А. В. Семенов, Ю. В. Останкова, Д. Э. Валутите, Д. А. Зуева // Материалы III Межрегионального форума специалистов «Актуальные вопросы инфекционной патологии» (Санкт-Петербург, 25-26 апреля 2018г.). – СПб. – 2021. – С. 87-88.
24. Валутите, Д.Э. Выявление мутаций лекарственной устойчивости вируса гепатита С у пациента на фоне терапии препаратами прямого противовирусного действия / Д.Э. Валутите, Ю.В. Останкова, С.С. Карякин // Материалы Международной научно-практической конференции «Молекулярная диагностика» (Москва, 09-11 ноября 2021г.). – М. – 2021. – С.5
25. Останкова, Ю.В. К вопросу о стандартизации диагностики вируса гепатита С у ВИЧ-инфицированных лиц / Ю.В. Останкова, Д.Э. Валутите // Материалы VIII Российского конгресса лабораторной медицины (РКЛМ 2022) (Москва, 06-08 сентября 2022г.). – М. – 2022. – С. 109-110.
26. Валутите, Д.Э. Мутации лекарственной устойчивости у терапевтически наивных пациентов с хроническим вирусным гепатитом С / Д.Э. Валутите, Ю.В. Останкова // Материалы Всероссийского терапевтического конгресса с международным участием «Боткинские чтения» (Санкт-Петербург, 22-23 апреля 2022г.). – СПб. – 2022. – С.43.
27. Рейнгардт Д.Э. Выявление мутаций лекарственной устойчивости вируса гепатита С среди пациентов с неэффективной терапией препаратами прямого противовирусного действия / Д.Э. Рейнгардт, Л.В. Лялина // Материалы IV Международной научно-практической конференции «Противодействие новой коронавирусной инфекции и

другим инфекционным заболеваниями» (Санкт-Петербург, 7-9 декабря 2023г.) – СПб. -2023. – С.258.

28. Ануфриева Е.В. Распространенность маркеров вирусного гепатита С в Гвинейской республике и социалистической республике Вьетнам / Е.В. Ануфриева, Н.К.Т. Ниунһ, Д.Э. Рейнгардт [и др.] // Материалы IV Международной научно-практической конференции «Противодействие новой коронавирусной инфекции и другим инфекционным заболеваниям» (Санкт-Петербург, 7-9 декабря 2023г.) – СПб. -2023. – С.30.

29. Ануфриева Е.В. Лабораторная диагностика вирусного гепатита С среди условно здоровых лиц из Социалистической Республики Вьетнам/ Е.В. Ануфриева, Д.Э. Рейнгардт// Материалы Российской научно-практической конференции «Управляемые инфекции: диагностика, лечение и профилактика» (Санкт-Петербург, 6-7февраля 2024г.) – СПб. -2024. С.11

30. Ануфриева Е.В. Молекулярно-генетическая характеристика вируса гепатита С у беременных женщин из Гвинейской Республики/ Е.В. Ануфриева, Д.Э. Рейнгардт// Материалы Российской научно-практической конференции «Управляемые инфекции: диагностика, лечение и профилактика» (Санкт-Петербург, 6-7февраля 2024г.) – СПб. -2024. С.11

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АРТ – антиретровирусная терапия
БОЦ – боцепревир
ВГС – вирус гепатита С
ВЕЛ – велпатасвир
ВИЧ – вирус иммунодефицита человека
ГЛЕ – глекапревир
ГРА – гразопревир
ГЦК – гепатоцеллюлярная карцинома
ДАК – даклатасвир
ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота
ИФА – иммуноферментный анализ
ЛЕД – ледипасвир
МЛУ – мутации лекарственной устойчивости
МСМ – мужчины, имеющие секс с мужчинами
ОМБ – омбитасвир
ПАР – паритапревир
ПВТ – противовирусная терапия
ПЕГ-ИНФа – пегилированный интерферон альфа
ПИБ – пибрентасвир
ПИН – потребители инъекционных наркотиков
ПППД – препараты прямого противовирусного действия
ПЦР – полимеразная цепная реакция
РБВ – рибаверин
РНК – рибонуклеиновая кислота
РФ – Российская Федерация
СЗФО – Северо-Западный Федеральный округ
СИМ – симепревир
СОФ – софосбувир
УВО – устойчивый вирусологический ответ
ХГС – хронический гепатит С
ЦП – цирроз печени
ЭЛБ – элбасвир