

ОТЗЫВ

официального оппонента доктора медицинских наук, директора Федерального бюджетного учреждения науки «Хабаровский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека Троценко Ольги Евгеньевны на диссертационную работу Киреева Дмитрия Евгеньевича «Эпидемиологический надзор за инфекцией, вызываемой вирусом иммунодефицита человека 1 типа, с применением биоинформатических методов», представленную на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальности 3.2.2. Эпидемиология (медицинские науки)

Актуальность темы диссертационной работы

Развитие эпидемии ВИЧ-инфекции в России началось позднее по сравнению со многими другими странами. Несмотря на это, в настоящее время в стране регистрируется значительное количество новых случаев болезни, а пораженность выше, чем в большинстве развитых стран. При этом инфекция все чаще регистрируется у лиц, не относящихся к уязвимым группам населения. Современная система эпидемиологического надзора в России позволяет регистрировать заболеваемость ВИЧ-инфекцией в разрезе субъектов РФ, а также с учетом половозрастной структуры. А проводимое широкомасштабное тестирование населения эффективно выявляет значительную долю ВИЧ-инфицированных лиц. Однако далеко не во всех случаях эпидемиологическое расследование позволяет определить истинный путь передачи возбудителя, а также лиц, относящихся к одному эпидемическому очагу. Указанные ограничения классических методов эпидемиологического надзора могут быть в значительной степени преодолены биоинформатическим анализом нуклеотидных последовательностей ВИЧ-1 в

сочетании с сопутствующей информацией о ВИЧ-инфицированных пациентах. Эффективность применения биоинформатических методов была продемонстрирована во многих направлениях, в первую очередь, при расследовании внутрибольничных очагов. Значительное увеличение доступной геномной информации о ВИЧ позволило расширить сферу их применения и внедрить их в систему эпидемиологического надзора за ВИЧ-инфекцией в развитых странах. При этом в Российской Федерации использование анализа нуклеотидных последовательностей ВИЧ-1 все еще ограничивается мониторингом лекарственной устойчивости вируса к антиретровирусным препаратам. В связи с этим диссертационное исследование Киреева Дмитрия Евгеньевича, посвященное усовершенствованию системы эпидемиологического надзора за ВИЧ-инфекцией путем использования методов биоинформатического анализа, является актуальным и значимым.

Степень достоверности полученных результатов и обоснованность научных положений и выводов

В ходе выполнения работы были использованы современные молекулярно-биологические и биоинформатические методы исследования. Достоверность и обоснованность результатов обусловлена большим объемом выборки, собранной за 14-летний период и соблюдением принципов доказательной медицины. Научные положения и выводы, сформулированные в диссертации, в полной мере отражают цель и задачи работы, основываются на полученных результатах и подтверждаются соответствующей статистической обработкой.

Научная новизна исследования

Проведенное исследование позволило выявить существенные ограничения в действующей системе эпидемиологического надзора за ВИЧ-

инфекцией на территории Российской Федерации и возможности ее усовершенствования путем внедрения биоинформатических методов анализа.

В ходе работы впервые получены 7164 нуклеотидные последовательности ВИЧ-1 и сопутствующая клинико-эпидемиологическая информация о ВИЧ-инфицированных пациентах. С помощью биоинформатических методов анализа определены особенности циркуляции генетических вариантов ВИЧ-1 на протяжении длительного периода развития эпидемии ВИЧ-инфекции в Российской Федерации.

Получены новые данные о распространенности лекарственной устойчивости ВИЧ-1. Было определено, что среди пациентов без опыта терапии в 2005-2019 гг. частота значимых мутаций к НИОТ, ННИОТ и ИП находилась в диапазоне 1,79-6,60%, однако в 2020-2022 гг. был зарегистрирован достоверный рост распространенности до 9,38% ($p < 0,05$). При этом максимальные показатели резистентности ВИЧ-1 в 10,4% были обнаружены к препаратам невирапин и эфавиренз. Лекарственная устойчивость ВИЧ-1 к ингибиторам интегразы оставалась на уровне ниже 1% для всех проанализированных временных интервалов.

Диссертантом были разработаны количественные критерии генетического сходства изолятов ВИЧ-1 для оценки эпидемиологической связи на основании полученных данных о скорости вирусной эволюции (0,41% в год в консервативном регионе *pol* и 1,99% в год в варибельном регионе *env*).

Были установлены значимые изменения в структуре циркулирующих вариантов, в частности, повышение общего генетического разнообразия ВИЧ-1 с одновременным снижением доли суб-субтипа А6 с 91,2% до 78,4%. Определены основные источники заноса редких вариантов, которыми оказались страны Западной Европы, США, Таиланд, Куба.

Применение кластерного анализа в отношении геномных данных вируса и сопутствующей информации о пациентах позволило выявить недорепортирование случаев передачи ВИЧ-1, происходящих в ходе гомосексуальных контактов ($p < 0,01$).

Теоретическая и практическая значимость результатов исследования

В ходе проведенных исследований были разработаны и внедрены в практику методологические подходы к комплексному применению современных молекулярно-генетических и биоинформационных методов анализа. Данные подходы позволяют проводить углубленное изучение эпидемического процесса ВИЧ-инфекции на качественно новом уровне, включая анализ механизмов передачи и эволюции возбудителя.

Для эпидемиологического расследования очагов ВИЧ-инфекции, потенциально связанных с оказанием медицинской помощи, был успешно применен филогенетический анализ в стандартизированном виде. Применение биоинформатических алгоритмов обработки геномных и клинико-эпидемиологических данных позволило реконструировать пути передачи вируса, выявить ключевые звенья эпидемического процесса, дать краткосрочный прогноз развития эпидемической ситуации.

В результате исследований была установлена распространенность и детально охарактеризована структура лекарственной устойчивости ВИЧ-1 среди пациентов, ранее не получавших антиретровирусную терапию. Полученные данные имеют важное практическое значение для повышения клинической эффективности терапии, научно обоснованного планирования закупок антиретровирусных препаратов и оптимизации бюджетных расходов на лечение ВИЧ-инфекции.

В рамках проекта разработаны и зарегистрированы в установленном порядке в качестве медицинских изделий наборы реагентов «АмплиСенс HIV-Resist-Seq», «АмплиСенс HIV-Resist-NGS». Данные диагностические системы позволяют проводить полногеномное секвенирование и комплексный анализ лекарственной устойчивости ВИЧ-1. Специально разработанное программное обеспечение «АмплиСенс Resist» обеспечивает редактирование нуклеотидных

последовательностей, автоматизированную детекцию мутаций устойчивости и генерацию стандартизированных отчетов.

Усовершенствованные электронные базы данных RuHIV и EECANIV были интегрированы в систему эпидемиологического надзора. Их функциональные возможности включают централизованный мониторинг лекарственной устойчивости ВИЧ-1, биоинформатический анализ геномных данных и автоматизированную обработку сопутствующей информации о ВИЧ-инфицированных пациентах.

Личное участие автора в получении результатов исследования

Автор самостоятельно разработал концепцию, методологию и дизайн научной работы, сформулировал цели и задачи исследования.

В рамках экспериментальной части работы автор разработал и провел валидацию наборов реагентов для амплификации и секвенирования генома ВИЧ-1, лично выполнил секвенирование нуклеотидных последовательностей ВИЧ-1 для части клинических образцов.

Автор участвовал в создании архитектуры электронных баз данных, обеспечивающих хранение, обработку и анализ загруженной информации.

Автор организовал сбор клинического материала и сопутствующих данных от ВИЧ-инфицированных пациентов. На основании полученных результатов автор лично сформулировал выводы, разработал практические рекомендации и подготовил публикации.

Оценка содержания диссертационной работы и ее завершенности

Диссертационное исследование включает в себя введение, десять глав, в том числе, обзор литературы, описание материалов и методов, а также восемь глав, посвященных собственным исследованиям, заключение, выводы, практические рекомендации, перспективы дальнейшей разработки темы,

список сокращений, термины и определение, список литературы и восемь приложений. Общий объем диссертационной работы составляет 277 страниц, включая 27 таблиц и 28 рисунков. Библиография содержит 250 источников, из которых 65 – отечественные и 185 – зарубежные.

Во введении диссертантом обосновывается актуальность выбранной темы, анализируется степень ее изученности в научной литературе, формулируется цель и задачи исследования, а также раскрывается научная новизна, теоретическая и практическая значимость работы. Кроме того, в данном разделе представлены методологическая основа работы, включая применяемые методы исследования, положения, выносимые на защиту, описание личного вклада автора в проведение исследования, сведения о внедрении результатов в практику, данные, подтверждающие достоверность и апробацию полученных результатов, соответствие диссертации паспорту научной специальности, информация о количестве публикаций автора по теме исследования.

В главе 1 проведен анализ развития эпидемии ВИЧ-инфекции в мире и в Российской Федерации, рассмотрены вопросы генетической изменчивости ВИЧ-1, механизмы формирования лекарственной устойчивости, а также современные методы секвенирования. На основе изучения научных публикаций проанализированы области применения биоинформатических подходов в системе эпидемиологического надзора за ВИЧ-инфекцией в различных странах.

Во второй главе содержится подробное описание материалов и методов, использованных в работе, а также дизайн исследования. Применяемая методология соответствует поставленным задачам и современным стандартам научных исследований. Объем собранных данных и выбранные методы обеспечивают обоснованность и достоверность полученных результатов.

В третьей главе проведена оценка российской системы эпидемиологического надзора за ВИЧ-инфекцией с точки зрения

целесообразности внедрения биоинформатических методов. Показано, что, несмотря на эффективность существующей системы диагностики и профилактики, на момент начала исследования молекулярно-генетические и биоинформатические подходы практически не применялись. Единственным направлением, закрепленным в нормативных документах, являлся мониторинг лекарственной устойчивости ВИЧ-1 посредством проведения когортных исследований.

В четвертой главе описывается создание, валидация и регистрация в качестве медицинских изделий двух наборов реагентов:

- «АмплиСенс HIV-Resist-Seq» – для выявления мутаций резистентности ко всем основным классам антиретровирусных препаратов (НИОТ, ННИОТ, ИП, ИИ, CCR5-антагонисты);
- «АмплиСенс HIV-Resist-NGS» – для полногеномного секвенирования кодирующей области ВИЧ-1.

Обширная область секвенирования генома ВИЧ-1 позволяет применять эти наборы не только для анализа устойчивости, но и для филогенетических исследований при расследовании внутрибольничных вспышек.

В пятой главе описана разработка специализированных баз данных для хранения и анализа нуклеотидных последовательностей ВИЧ-1 и клинико-эпидемиологической информации. Созданы Российская база данных устойчивости ВИЧ к антиретровирусным препаратам и аналогичная база для стран Восточной Европы и Центральной Азии.

Использование российской базы данных впоследствии было регламентировано нормативными документами (МУ, 2013; МР, 2016; СанПиН, 2021).

Шестая глава посвящена оценке эффективности биоинформатических методов при расследовании случаев инфицирования ВИЧ-1, предположительно связанных с оказанием медицинской помощи. На основе анализа медицинской документации, успешности секвенирования и результатов филогенетического анализа нуклеотидных последовательностей

вируса сформулированы рекомендации по повышению точности таких исследований. Дополнительно предложены методы увеличения достоверности филогенетического анализа с учетом скорости эволюции различных участков генома ВИЧ-1.

В седьмой главе представлены результаты исследования распространенности и структуры резистентности ВИЧ-1 на выборке из 2740 пациентов (2005–2022 гг.). Установлено, что к 2020–2022 гг. доля значимых мутаций достигла 9,38%, а общий уровень резистентности ВИЧ-1 к антиретровирусным препаратам составил 12,56%. Наиболее часто встречалась устойчивость к препаратам класса ННИОТ, тогда как резистентность к ингибиторам интегразы оставалась минимальной (0,28%).

Восьмая глава содержит анализ циркулирующих генетических вариантов ВИЧ-1. Основным штаммом остается суб-субтип А6, однако его доля снизилась с более чем 90% (до 2007 г.) до 78,4% (2018–2022 гг.). В ходе исследования выявлено 37 случаев заражения редкими вариантами ВИЧ-1, большинство из которых были завезены из США, Таиланда, Кубы и стран Западной Европы, причем заражение происходило преимущественно посредством гомосексуальных контактов.

Девятая глава посвящена изучению динамики распространения ВИЧ-1 в Центральном федеральном округе с использованием кластерного анализа нуклеотидных последовательностей. Установлено, что наиболее активная передача вируса наблюдалась среди мужчин, имеющих секс с мужчинами (МСМ), носителей генетического варианта CRF63_02A6, лиц старше 40 лет. При этом было зарегистрировано снижение скорости передачи среди потребителей инъекционных наркотиков и подростков. На примере пилотного региона автором была продемонстрирована эффективность кластерного анализа при выявлении групповых очагов инфекции.

В десятой главе сформулированы рекомендации по модернизации системы эпидемиологического надзора за ВИЧ-инфекцией с использованием

биоинформатических методов. Особое внимание уделено оперативному и ретроспективному эпидемиологическому анализу собранных геномных и клинико-эпидемиологических данных, а также оптимизации профилактических и противоэпидемических мероприятий на основе полученных результатов.

В заключительной части работы обобщены ключевые результаты, проведено их сопоставление с зарубежными данными, а также оценена эффективность внедрения биоинформатических методов в систему эпидемиологического надзора за ВИЧ-инфекцией.

На основании проведенного исследования диссертантом сформулированы 8 выводов, представлены практические рекомендации и перспективы дальнейшей разработки темы. Выводы соответствуют цели, задачам исследования и положениям, выносимым на защиту. Диссертация дополнена 8 приложениями, включающими соглашения о сотрудничестве, регистрационные удостоверения, свидетельства о государственной регистрации программ для ЭВМ и баз данных.

Апробация результатов

Основные результаты диссертационного исследования были опубликованы в 36 печатных работ, в том числе 18 в изданиях, рекомендованных ВАК Министерства науки и высшего образования Российской Федерации. Результаты диссертационного исследования доложены и обсуждены на более чем 30 региональных, всероссийских и международных совещаниях, конференциях и конгрессах. Результаты научной деятельности были использованы для разработки 2 методических рекомендаций, методических указаний, 2 проектов методических рекомендаций, разделов в Санитарные Правила и Нормы. Диссертантом получены свидетельства о государственной регистрации 2 баз данных и 3 программ для ЭВМ, 2 регистрационных удостоверений на медицинские изделия.

Соответствие автореферата основным положениям диссертации

Автореферат имеет четкую структуру и дает полное представление о цели, задачах и результатах исследования. Он точно отражает содержание диссертационной работы, раскрывает основные положения, выносимые на защиту. Автореферат соответствует требованиям ГОСТ.

Замечания и вопросы

Принципиальных замечаний к содержанию работы и ее оформлению при рассмотрении диссертации не возникло.

В рамках дискуссии прошу ответить на вопрос: Какова оценочная стоимость внедрения биоинформатических методов в систему эпидемиологического надзора за ВИЧ-инфекцией?

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Диссертация Киреева Дмитрия Евгеньевича на тему «Эпидемиологический надзор за инфекцией, вызываемой вирусом иммунодефицита человека 1 типа, с применением биоинформатических методов», представленная на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальности 3.2.2. Эпидемиология, является законченной научно-квалификационной работой, в которой решена актуальная проблема оптимизации системы эпидемиологического надзора за ВИЧ-инфекцией с использованием современных молекулярно-генетических методов, что имеет важное народно-хозяйственное значение.

Диссертационная работа по своей актуальности, научной новизне, объему проведенных исследований, теоретической и практической значимости, достоверности полученных результатов, обоснованности сделанных выводов и рекомендаций полностью соответствует требованиям пунктов 9-14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного

Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842 (в действующей редакции), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора медицинских наук, а ее автор Киреев Дмитрий Евгеньевич заслуживает присуждения ученой степени доктора медицинских наук по специальности 3.2.2. Эпидемиология.

Согласен на сбор, обработку, хранение и размещения в сети «Интернет» моих персональных данных (в соответствии с требованиями Приказа Минобрнауки России № 662 от 01.07.2015 года), необходимых для работы диссертационного совета Д 64.1.010.01.

Официальный оппонент:

директор ФБУН «Хабаровский научно-исследовательский институт

эпидемиологии и микробиологии»

Роспотребнадзора,

доктор медицинских наук

Троценко Ольга Евгеньевна

«31» июля 2025 г.



Подпись д.м.н. Троценко О.Е. заверяю:

Ученый секретарь ФБУН «Хабаровский

научно-исследовательский институт

эпидемиологии и микробиологии»

Роспотребнадзора, кандидат мед. наук

Корита Татьяна Васильевна

Федеральное бюджетное учреждение науки «Хабаровский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека

680610, Хабаровский край, город Хабаровск, ул. Шевченко, д.2

Тел.: +7(4212) 32-52-28

e-mail: olga.trotsenko.57@mail.ru