МЕДИЦИНСКИ УНИВЕРСИТЕТ СОФИЯ

Д-Р ЕЛЕНА СВЕТЛОЗАРОВА ДРАГУШЕВА-ЙОРДАНОВА

Поствакcинален имунен отговор при хора, живеещи с HIV, след приложение на ваксини срещу сезонен грип, SARS-CoV-2, HAV и HBV

АВТОРЕФЕРАТ

за присъждане на образователна и научна степен „доктор“

Област на висше образование: 7. Здравеопазване и спорт, Професионално направление: 7.1. Медицина, Научна специалност: 03.01.33 „Инфекциозни болести“

Научен Ръководител: доц. д-р Нина Янчева-Петрова, дм
Научен Ръководител: проф. д-р Георги Попов, дм

София
2023г

Дисертационният труд съдържа 118 страници, представени са нагледно 16 таблици и 17 фигури. Библиографската справка включва 195 литературни източника, от които 27 на български език и 168 чуждестранни.

Дисертационният труд е представен и предложен за защита на Катедрен съвет на 09.03.2023г. в Катедра по инфекциозни болести, паразитология и тропическа медицина на Медицински Факултет към МУ - София. Насочен е за публична защита пред Научно жури в състав:

1. **Проф. д-р Татяна Петрова Пенкова-Червенякова, дмн** - вътрешен член за МУ-София
2. **Доц. д-р Ивайло Иванов Еленков, дм** - вътрешен член за МУ - София
3. **Проф. д-р Марияна Стойчева Вьртигова, дмн** - външен член за МУ - София, Медицински Университет - Пловдив
4. **Проф. д-р Радка Младенова Аргирова, дмн** - външен член за МУ - София, Аджибадем Сити Клиник УМБАЛ „Токуда“
5. **Проф. д-р Ива Стефанова Христова, дмн** - външен член за МУ - София, Национален център по заразни и паразитни болести

Резервни членове:

1. **Проф. д-р Виктория Цветанова Дойчева, дм** – вътрешен резервен член за МУ - София, Катедра по епидемиология и хигиена на Медицински факултет при МУ - София
2. **Проф. д-р Мария Християнова Стоименова-Николова, дм** – външен резервен член за МУ - София, Национален център по заразни и паразитни болести

Технически сътрудник: Елена Георгиева Динева

Дисертационният труд е разработен в Катедрата, като практически дейности са извършвани в Клиника по инфекциозни болести УМБАЛ „Св.Георги“ гр. Пловдив, Аджибадем Сити Клиник УМБАЛ „Токуда“, Военномедицинска Академия София, Център по сексуално здраве Checkpoint. Експерименталната работа е извършена във Вирусологична лаборатория в Аджибадем Сити Клиник УМБАЛ „Токуда“.

Защитата на дисертационния труд ще се състои на 20.06.2023г от 13 часа в зала 2 на предклиничен учебен център към Медицински Университет гр. София на открито заседание на Научното жури.

Материалите по защитата са на разположение в библиотеката на Медицински факултет, МУ-София, ул. „Св. Георги Софийски“ № 1 и на сайта: https://mu-sofia.bg/.

СЪДЪРЖАНИЕ:

ИЗПОЛЗВАНИ СЪКРАЩЕНИЯ 4
УВОД 7
1. ЦЕЛ И ЗАДАЧИ НА ИЗСЛЕДВАНЕТО. 8
1.1 ЗАДАЧИ НА ИЗСЛЕДВАНЕТО 8
2. ХИПОТЕЗА 9
3. МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ 9
3.1. МАТЕРИАЛИ 9
3.2. МЕТОДИ 9
4. РЕЗУЛТАТИ 13
1. РЕЗУЛТАТИ след ваксинация срещу COVID-19 13
2. РЕЗУЛТАТИ след ваксинация срещу сезонен грип тип A/B 19
3. РЕЗУЛТАТИ след ваксинация срещу хепатит A/B 25
5. ДИСКУСИЯ 34
6. ИЗВОДИ 41
7. ПРИНОСИ И ПРЕПОРЪКИ НА ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД 43
7.1 Приноси 43
7.2 Препоръки 44
8. НАУЧНИ ПУБЛИКАЦИИ И СЪОБЩЕНИЯ, СВЪРЗАНИ С ДИСЕРТАЦИЯТА 45
8.1 Научни публикации 45
8.2 Съобщения, изнесени на научни форуми 45
8.3 Участие в конференции и научно-практически обучения 46
8.4 Спечелени проекти 47

ИЗПОЛЗВАНИ СЪКРАЩЕНИЯ

HIV – човешки имунодефицитен вирус

AIDS – Синдром на Придобитата Имунна Недостатъчност (СПИН)

HAV – хепатитен А вирус

HBV – хепатитен В вирус

COVID-19 – коронавирус, индуцирано заболяване 2019

SARS-CoV-2 – тежък остър респираторен синдром, причинен от коронавирус 2

HbsAg – повърхностен антиген на HBV

Anti-HBs – антитела срещу повърхностния антиген на HBV

Anti–HAV – антитела срещу хепатит А вируса

ECDC – Европейски център за превенция и контрол на заболяванията

WHO – Световна Здравна Организация

ART – антиретровирусна терапия

FDA – Американска асоциация за контрол на храни и лекарства

ELISA – Ензимно свързан имуносорбентен тест

ELISPOT – Ензимно свързан имуносорбентен спот тест

HCC – хепатоцелуларен карцином

MSM – мъже, които правят секс с мъже

NK – клетки естествени убийци

VL – вирусен товар

SIV – маймунски имунодефицитен вирус

STD – сексуално предавани болести

HTLV-III – човешки Т-лимфотропен вирус III

LAV – лимфаденопатия-асоцииран вирус

PrEP – преекспозиционна профилактика

PEP – постекспозиционна профилактика

gp – гликопротеин

UNAIDS – Обединени Нации за борба със СПИН

PLHIV – хора, живеещи с HIV

RT-PCR – полимеразна верижна реакция в реално време

NRTIs – нуклеозидни инхибитори на обратната транскриптаза

ИУН – инжекционно употребяващи наркотици

bNAb – широко неутрализиращи антитела

EMA – Европейска агенция по лекарствата

BSI – Британско дружество по имунология

TCID/Ml – тъканна култура инфекциозна доза/мл

LTNPs – дългосрочни непрогресори

ARDS – Остър Респираторен Дистрес Синдром

GMT - среден геометричен антителен титър

ГКТС – Главен Комплекс на Тъканна Съвместимост

ХБЗ – Хронично Бъбречно Заболяване

AZT – azidothymidine

PCP – пневмоцистна пневмония

ROS – реактивни кислородни форми

NRTIs - нуклеозидни инхибитори на обратната транскриптаза

NNRTIs - ненуклеозидни инхибитори на обратната транскриптаза

PIs - протеазни инхибитори

IIs - интегразни инхибитори

EACS – Европейско клинично дружество по СПИН

TDF – тенофовир дизопроксил фумарат

TAF – тенофовир алафенамид

FTC – емтрицитабин

RAL – ралтегравир

DRV – дарунавир

DTG – долутегравир

BIC – биктегравир

УВОД

През последните няколко години се забелязва тенденция за стациониране на броя на новозаразените лица с вируса HIV, но въпреки тази привидно по-благоприятна статистика, проблемите, свързани с имуносупресията при тях и касаещи тяхната дългогодишна преживяемост, все още ги определят като особено рискова популация. С развитието и напредъка на ART терапията, естеството на проблемите, съпътстващи живота им, търпи своите промени. Докато преди основен фокус е било лечението и то предимно на напредналите и крайни фази на заболяването, то в настоящия момент все по-голямо внимание се обръща на превенцията и първичните профилактични мероприятия. Тази тенденция в медицината крие много положителни аспекти с оглед на първичната задача за запазване на здравето на населението и разбира се прилагане на съвременни лечения, но също така представя нов вид проблеми и пред пациентите, и пред лицата, работещи в сектор здравеопазване. А именно - необходимостта от по-широкото разпространение на мерките за първична имунопрофилактика, както и ресурси по нейното осъществяване и изготвяне на мащабни обучителни програми както за пациентите, така и за разширяване на мирогледа с новите възможности на медицината на клиницистите. Наблюдаваните по-чести вирусни и бактериални коинфекции са с възможност за по-усложнено протичане при лица, живеещи с HIV. Това налага особен интерес към по-детайлното проучване на имунния отговор у тези лица след приложението на съществуващи ваксини срещу вирусите на грипа, SARS-CoV-2, HAV, HBV с цел намаляване на заболяемостта. През 2020г разпространението на вируса, причиняващ COVID-19, обхвана целия свят и засегна хора от всички популации. Именно тази бързоразпространяваща се и в редица случай фатално протичаща инфекция наложи нуждата от въвеждане и прилагане на ваксините против COVID-19 и изследване на имунния отговор, получен след приложението им, при лица с имуносупресия. Данните за по-тежко протичане на инфекциите със SARS-CoV-2, както и тези с вирусните хепатити A, B, C при хора от уязвими групи налага именно по-сериозното проучване на ефективността на прилаганите ваксини срещу възможните ваксинопредотвратими инфекции. Целеви имунизации са препоръчителни не само срещу изброените вирусни инфекции, но също срещу пневмококови и менингококови инфекции, както и срещу различните щамове HPV при определени рискови групи. В България например прилагането на ваксината срещу Хепатит В започва още през далечната 1988г като се използват само рекомбинантни ваксини, а от 1991г е въведена задължителната

имунизация на новородените у нас, но въпреки дългогодишното ѝ прилагане, в литературата не се откриват достатъчно категорични данни относно проследяването на имунния отговор след приложението ѝ, както при деца, така и при възрастни. Според направения литературен обзор се срещат и противоречиви данни за трайността на имунитета след приложението на ваксини срещу HBV и комбинирани такива – HBV+HAV. Допълнителен здравен проблем представлява и имунният отговор при сезонната грипна ваксина, който се характеризира с особена нетрайност, поради различните щамове циркулиращ активен вирус. Тези факти поставят ясна цел за детайлно проследяване на ефективността след приложението на тези ваксини не само при здрави пациенти, но и при имунокомпрометирани лица. За реализирането на поставената цел се насочваме към клинично проучване на отговора към ваксините срещу SARS-CoV-2, Хепатит B, Хепатит A, сезонни грипни ваксини при пациенти, живеещи с HIV и при контролна група от здрави лица. Смятаме, че проучването в тази насока би довело до теоретични и практически изводи, които да имат значими обществени ползи.

1. ЦЕЛ И ЗАДАЧИ НА ИЗСЛЕДВАНЕТО.

Целта на настоящия дисертационен труд е да се проучи ефективността на хуморалния имунен отговор след приложение на ваксини срещу HBV, HAV, сезонни грипни ваксини и ваксини срещу SARS-CoV-2 у лица, живеещи с HIV/СПИН. Ваксините се прилагат и на имунокомпетентни здрави лица, които не са носители на вируса HIV, като контролна група. Чрез серологични и молекулярно-биологични изследвания обхванатите популации ще бъдат разделени на субпопулации. Неваксинираните в миналото или тези с недостатъчен имунен отговор към момента на изследването ще бъдат ваксинирани и след това ще се направи сравнителен анализ на имунния им отговор с този в общата, незасегната от HIV популация. За постигането на научно – изследователската цел си поставихме следните задачи:

1.1 ЗАДАЧИ НА ИЗСЛЕДВАНЕТО

1. Да се определи ваксиналният статус сред подбраната изследвана популация чрез анкетиране.

2. Да се проведе първична профилактика чрез ваксинация срещу посочените заболявания у подбраната популация след информирано съгласие на пациентите.
3. Да се проведат серологични изследвания за проверка на антителния отговор 4 – 6 седмици след всеки завършен ваксинален курс.
4. Да се направи сравнителен анализ на резултатите за ефективността на антителния отговор у имунокомпрометирани пациенти и у здрави, неинфектирани с HIV, контроли.
5. Да се направи сравнителен анализ на резултатите в зависимост от възрастта и пола.

2. ХИПОТЕЗА

Допускаме наличието на съществени различия в антителния отговор (титър на антителата, време на поява след ваксинацията, продължителност и други) след прилагането на ваксините, независимо от времето на поставянето им, у лица, живеещи с HIV в сравнение с този при имунокомпетентни лица.

3. МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ

3.1. МАТЕРИАЛИ

Настоящото научно – изследователско проучване обхваща общо 218 пациента, носители на HIV, на които са проведени ваксинации срещу COVID-19, хепатит A, B и сезонен грип. Беше предвидено провеждане на серологични изследвания по метода ELISA за установяване на изграден протективен имунитет на втория поствакcинален месец, както и сравняването му с този на здрави, неинфектирани лица.

3.2. МЕТОДИ

3.2.1. Анкетен метод

Беше извършено изготвяне на анкетна карта за включване на пациентите в проучването и тяхното разпределяне според демографските им характеристики, както и взимане на тяхното информирано съгласие за участие.

3.2.2. Лабораторно - диагностични методи

За постигане на поставените цел и задачи бяха използвани серологични лабораторно-диагностични методи, основани на метода ELISA за определяне на нивата на anti-HBs, anti-HAV, грип тип A/B IgG, VNT SARS-CoV-2.

За изследването на антителата anti-HBs, е използван ензимен „сандвич“ ELISA метод за количественото им определяне към повърхностния антиген на хепатит В вирус в човешки серум. Микроплаките са покрити с HBsAg и при инкубацията с пробата, anti-HBsAg антителата се прикрепят към твърдата фаза. След промиване уловените антитела се откриват отново чрез използване на HBsAg, белязан с ензима пероксидаза, която специфично свързва второ налично място на антителата. Резултатите се отчитат спектрофотометрично при дължина на вълната 450nm като генерираният оптичен сигнал е пропорционален на HBsAb в пробите. За интерпретация на получените резултати се използва ELISA софтуер и калибраторна крива, според която се изчислява концентрацията на anti-HBs антителата в серумите на пациентите.

- Серумни проби с концентрация по-малка от 10 mIU/mL се считат отрицателни.
- Серумни проби с концентрация по-висока от 10 mIU/mL се считат положителни като за адекватен протективен имунен отговор се считат стойности => 100mIU/mL един месец след последната доза ваксина.

При изследването на anti-HAV IgG антителата отново е използван ELISA метод, като получените резултати могат да бъдат тълкувани по следния начин:

- Стойности <20 IU/ml се считат за отрицателни
- Стойности >20 IU/ml – за положителни.

Изследването на anti-Flu A/B IgG е осъществено също чрез ELISA лабораторен метод (EUROIMMUN) на събраните 4-6 седмици след ваксинация с противогрипна ваксина серуми. При работата с китовете за изследванията са спазвани всички препоръки на производителя за използване на позитивни и негативни контроли, условия и времеви интервали за инкубация. Пробите са съхранявани при -70° до използването им. След фотометричното отчитане и анализ резултатите на антителата срещу грип A/B са отчетени в относителни единици (RU)/ml:

- положителни са при стойности ≥22RU/ml
- гранични при ≥16 до <22 RU/ml
- отрицателни при стойности <16 RU/ml.

За изследване на вируснеутрализиращите антитела срещу SARS-CoV-2 принципът на използвания лабораторен метод се основава на взаймодействието между рекомбинантния RBD фрагмент на S - протеина на SARS-CoV-2 вируса и протеин на човешкия ACE2 рецептор (hACE2), което в последствие се блокира от неутрализиращите антитела, ако такива са се формирали. Инкубацията на пробите позволява свързването на вируснеутрализиращите антитела с рекомбинантния RBD фрагмент и след това сместа се добавя към плаката, която е предварително натоварена с hACE2 протеина. Накрая чрез абсорбция при 450 nm се отчита обратнопропорционална зависимост на титъра на свързаните неутрализиращи антитела срещу SARS-CoV-2. За гарантиране на валидността на резултатите, тестът включва положителни и отрицателни контроли като резултатите са отчетени и са тълкувани по следния начин:

- >= 30 % - Положителен резултат, показващ наличие на неутрализиращо антитяло срещу SARS-CoV-2.
- < 30% - Отрицателен резултат, показващ липса или ниво на неутрализиращо антитяло под границата за откриване на този тест.

3.2.3. Епидемиологични методи

Проведен беше анализ на публикувани епидемиологични проучвания за заболяемост от конкретните инфекциозни заболявания в нашата страна. Основен работен метод в науката епидемиология е сравнението, като то бива:

- абсолютно – установява се с колко по-висока е заболяемостта сред определена група лица, изложена на действието на конкретен рисков фактор, в сравнение с неекспонираните лица (изчислява се рискова разлика – RD);
- относително – установява се колко пъти е по-голяма вероятността експонираните лица да развият определено заболяване в сравнение с неекспонираните (изчислява се относителен риск – risk ratio RR).

Разгледани са рандомизирани проучвания – при които се разглежда дадено явление при случайно разпределение на изследваните лица в две групи, съответно експериментална и контролна, както и популационни анализи, които разглеждат големи групи от населението, върху които е приложена дадената ваксинация.

3.2.4. Клинични методи

Бяха извършени снемане на щателна и насочена анамнеза, както и оценка на обективното състояние.

3.2.5. Документален метод

Проучени се данните в световната литература по поставения проблем. Събрани са и обработени данни от медицинска документация на пациентите, включени в настоящото изследване. Пациентите преди включване в проучването са предварително анкетирани за тяхното здравословно състояние и настоящ ваксинален статус към конкретните заболявания, събрани са техни демографски и социални данни. Преди включването им в проучването пациентите са запознати със значимите здравословни ползи от предложените им ваксини, както и с възможните евентуални рискове след приложението им. Подписани са информирани съгласия на всеки етап от настоящото изследване, преди осъществяването на всяка стъпка от проучването, а именно ваксинация в съответните дозови режими, пробовземане на венозна кръв и нейния анализ. Също така пациентите са отговорили на кратък въпросник, целящ да проучи техните основни знания по въпросите, свързани с HIV/AIDS и методите на разпространение на вируса. При получени неправилни отговори, пациентите бяха своевременно запознати и информирани по основните въпроси, касаещи разпространението и рисковите поведенчески практики.

3.2.6. Статистически методи

1. Методи от описателната статистика

1.1. Категорийните променливи са представени като абсолютни и относителни честоти (%)

1.2. Количествените променливи са представени със средна аритметична, медиана и размах (минимум и максимум), тъй като разпределението им се различава от нормалното.

2. Методи от аналитичната статистика

2.1. Формата на разпределението на количествените променливи е оценена с тестовете на Шапиро-Уилк и Колмогоров-Смирнов

2.2. При сравняване на средни стойности на две групи е приложен тестът на Ман-Уитни

2.3. При търсене на връзка между категорийни променливи е използван хи квадрат анализ

2.4. За оценка на фактори на бинарни събития е приложен логистичен регресионен анализ

2.5. За оценка на връзката между количествени променливи с разпределение, различно от нормалното, е използван корелационен коефициент на Спирман, като стойности под 0,3 са приети за слаба връзка; между 0,3 и 0,5 за умерена; между 0,5 и 0,7 за значителна, между 0,7 и 0,9 за силна, а над 0,9 за много силна връзка

2.6. При стойности на $p<0,05$ резултатите са приети за значими, а при $0,1<p<0,5$ – за гранични

Данните са обработени с помощта на SPSS, версия 22. Графичните изображения са създадени с SPSS 22 и Excel 2010.

4. РЕЗУЛТАТИ

1. РЕЗУЛТАТИ след ваксинация срещу COVID-19

Всички, включени в нашето проучване 40 пациенти към момента на ваксинацията и проследяването приемат редовно антиретровирусна терапия и по-голямата част от тях са с неоткриваем вирусен товар. Две дози или завършен ваксинален курс от тях получават 36/40 пациента. Трима от останалите с една доза от ваксината развиват клинична форма на заболяването COVID-19 след първата апликация и според актуалните препоръки към този момент, втората доза от ваксината следваше да бъде поставена след 3-6 м след датата на положителния PCR – тест. Други двама отказват да поставят втората си доза, като единият взима участие в изследването на процента вируснеутрализираща активност на антителата по-късно (с резултат - 96.55%). На втория постваксинален месец е изследван серум от 32-ма пациенти. Данните за броя на CD4+ Т-лимфоцити при изследваните пациенти са >350 cells/mm3, като само при един от пациентите нивото им е <200 cells/mm3 - а именно 190 cells/mm3. На изложената таблица са представени данните на пациентите в систематизиран вид като прави впечатление, че по-голямата част от тях са от мъжки пол (92,1%) и е известно, че са предимно спадащи към групата на MSM лица. Средната възраст на участвалите пациенти е 40,7 години (медиана 39,5 г., като варират от 29г до 60г), всички живеещи в гр. София.

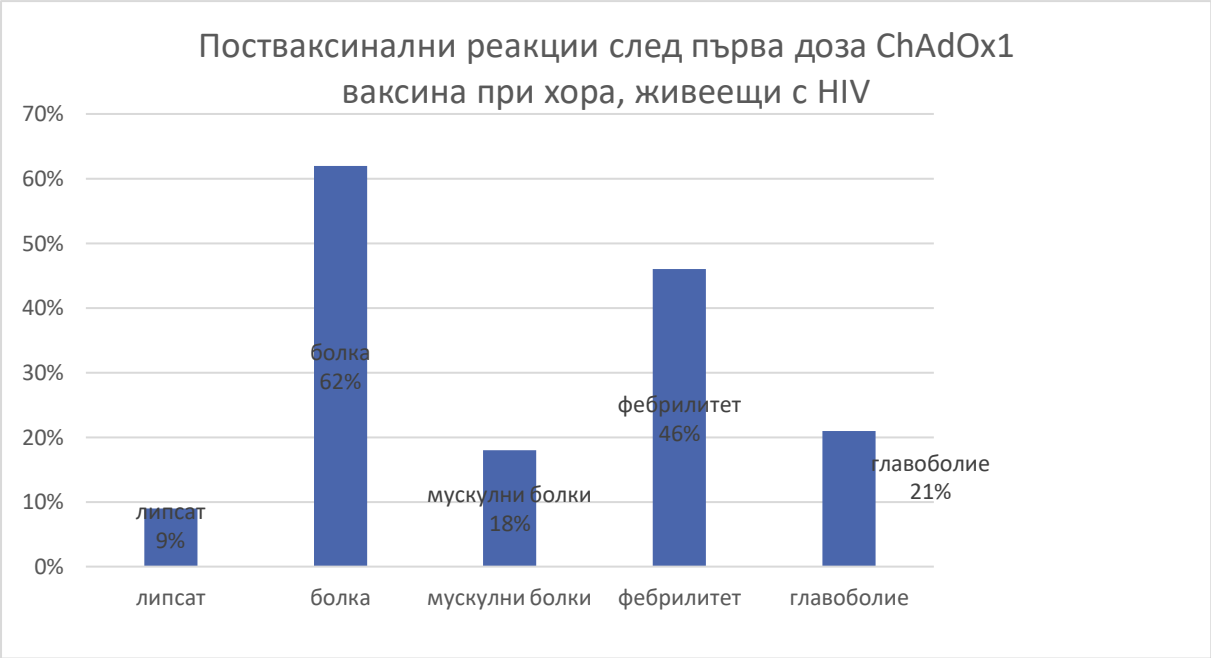
Таблица 1. Вируснеутрализиращи титри (VNT%) у 32 PLHIV, ваксинирани с Vaxzevria и техният имунен статус (абсолютен брой CD4+T-ly) и вирусен товар (VL) към момента на имунизацията

Пациент	Възраст	Пол	CD4+T-ly	VL(copies/ml)	VNT %
Пациент 1	42	m	1180	неоткриваем	96.99%
Пациент 2	31	m	850	неоткриваем	91.84%
Пациент 3	37	m	997	неоткриваем	75.60%
Пациент 4	39	m	600	неоткриваем	56.78%
Пациент 5	36	m	750	неоткриваем	94.10%
Пациент 6	56	m	739	93.2 copies	97.11%
Пациент 7	40	m	1 000	неоткриваем	97.05%
Пациент 8	47	f	500	200 copies	96.99%
Пациент 9	40	f	900	неоткриваем	93.29%
Пациент 10	44	m	190	неоткриваем	93.29%
Пациент 11	35	m	569	неоткриваем	96.30%
Пациент 12	41	m	900	неоткриваем	95.80%
Пациент 13	37	m	710	неоткриваем	97.05%
Пациент 14	44	m	1300	50 copies	91.41%
Пациент 15	56	m	535	неоткриваем	96.93%
Пациент 16	48	m	600	неоткриваем	94.92%
Пациент 17	39	m	1200	400 copies	78.42%
Пациент 18	30	m	800	неоткриваем	80.39%
Пациент 19	40	m	1498	неоткриваем	96.55%
Пациент 20	32	m	1400	неоткриваем	96.93%
Пациент 21	60	m	590	неоткриваем	68.38%
Пациент 22	59	m	412	неоткриваем	62.86%
Пациент 23	37	m	575	65 copies	96.36%
Пациент 24	35	m	1130	неоткриваем	97.05%
Пациент 25	31	m	565	неоткриваем	97.05%
Пациент 26	46	m	505	неоткриваем	76.50%
Пациент 27	53	m	757	неоткриваем	96.93%
Пациент 28	30	m	530	неоткриваем	95.57%
Пациент 29	40	m	675	неоткриваем	96.11%
Пациент 30	40	m	900	неоткриваем	96.17%
Пациент 31	51	m	800	неоткриваем	96.11%
Пациент 32	45	f	900	неоткриваем	95.81%

При 5 от изследваните пациенти (номера според таблицата по-горе: 6,8,14,17,23) се наблюдава известното покачване на вирусния товар на HIV над прага на детекция според предоставените данни за последното му изследване, но при всички тях това не оказва негативно влияние върху процентната стойност на вируснеутрализиращите им антитела към SARS-CoV-2. Те имат положителен отговор като при 4 от тях дори резултатът надхвърля 90%.

Поствакcинални реакции

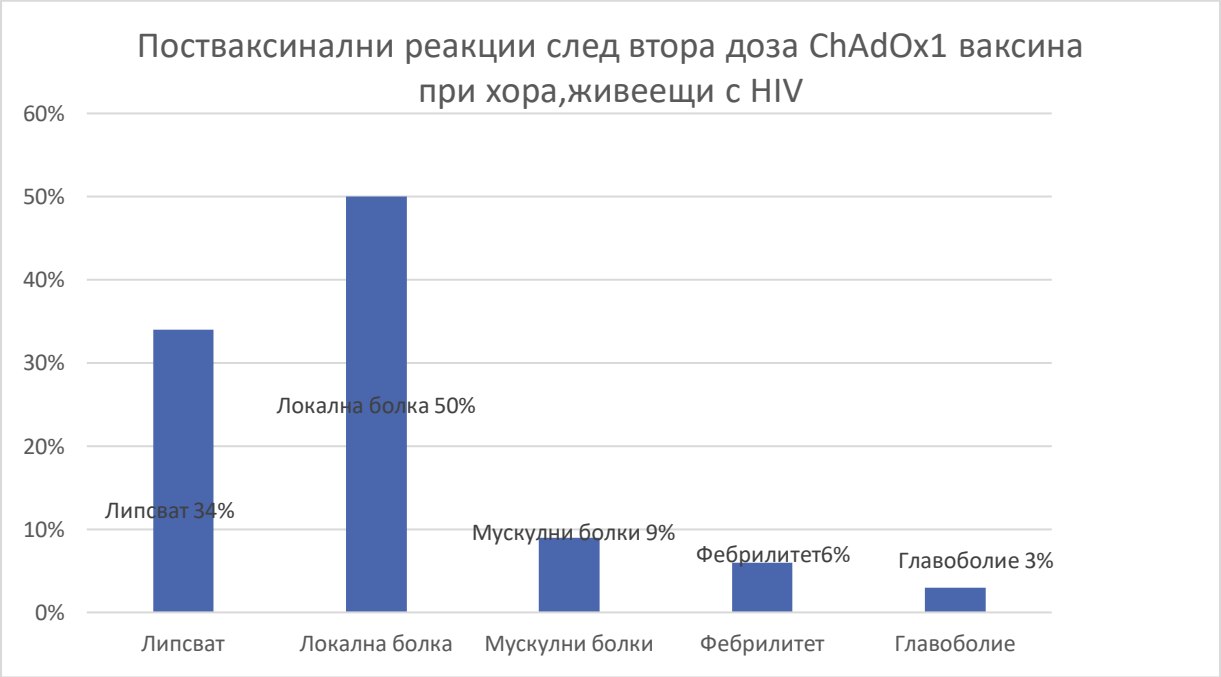
През м. февруари 2021г. е поставена първата доза от цитираната ваксина и пациентите са проследени за развитие на постваксинални реакции в дните след ваксинацията. Най-често съобщаваната реакция е болка на мястото на апликацията, която е проявена при 20/32 участници (62%). При трима не са наблюдавани никакви неблагоприятни събития след ваксинацията (9%). Другите най-често съобщавани реакции са съответно мускулни болки при 6/32 пациента (18%), фебрилитет – при 15/32 (46%) и главоболие – при 7/32 (21%). Обобщените реакции са представени графично на фигура 1.



Фигура 1. Постваксинални реакции след първа доза ChAdOx1 ваксина при PLHIV

Потърсиха се фактори за появата на постваксинална реакция (независимо от нейния вид). Не се доказа, че възрастта и пола на пациентите са фактори за това. Не се доказа връзка между стойностите на CD4 и появата на постваксинална реакция, както и между вирусния товар и появата на постваксинална реакция ($p>0,05$). Интересно е да се отбележи, че процентът вируснеутрализиращи антитела при пациентите е с гранична значимост като фактор за постваксиналните реакции (HR=1,094, p=0,051), като шансът от постваксинална реакция нараства с 9,4% при увеличаване на вируснеутрализиращите антитела с 1%. Това обаче трябва да се тълкува внимателно, тъй като всъщност нивото на антителата е проследено два месеца след ваксинацията, а неблагоприятните реакции са съобщени в най-голяма степен до 48ч постваксинално. Отложени реакции не са съобщени и наблюдавани при изследваните пациенти.

Втората доза от ваксината е поставена в диапазона 4-12 седмици след първата, като при по-голямата част от пациентите е спазен препоръчваният по-дълъг интервал между двете дози, както е споменато и в литературата за по-високи нива на неутрализиращите антитела при поставянето на втората доза след >28 дни. Прави впечатление по-ниският процент на нежелани събития след втората ваксинация, а именно - не са наблюдавани такива при 11/32 (34%). Най-честото оплакване е отново болка на мястото на приложението – при 16/32 (50%), последвано от мускулни болки – при 3/32 (9%), фебрилитет – при 2/32 (6%) и главоболие при един пациент (3%). Съобщените от пациентите нежелани реакции са и най-често регистрираните такива в мащабни клинични проучвания. Нежеланите реакции след поставяне на втората доза при изследваните пациенти могат да бъдат обобщени и на следната фигура.



Фигура 2. Постваксинални реакции след втора доза ChAdOx1 ваксина при PLHIV

За наличието на постваксинални реакции след втората доза подобно на установеното след първата апликация не се доказаха значими фактори (p>0,05).

Контролна група

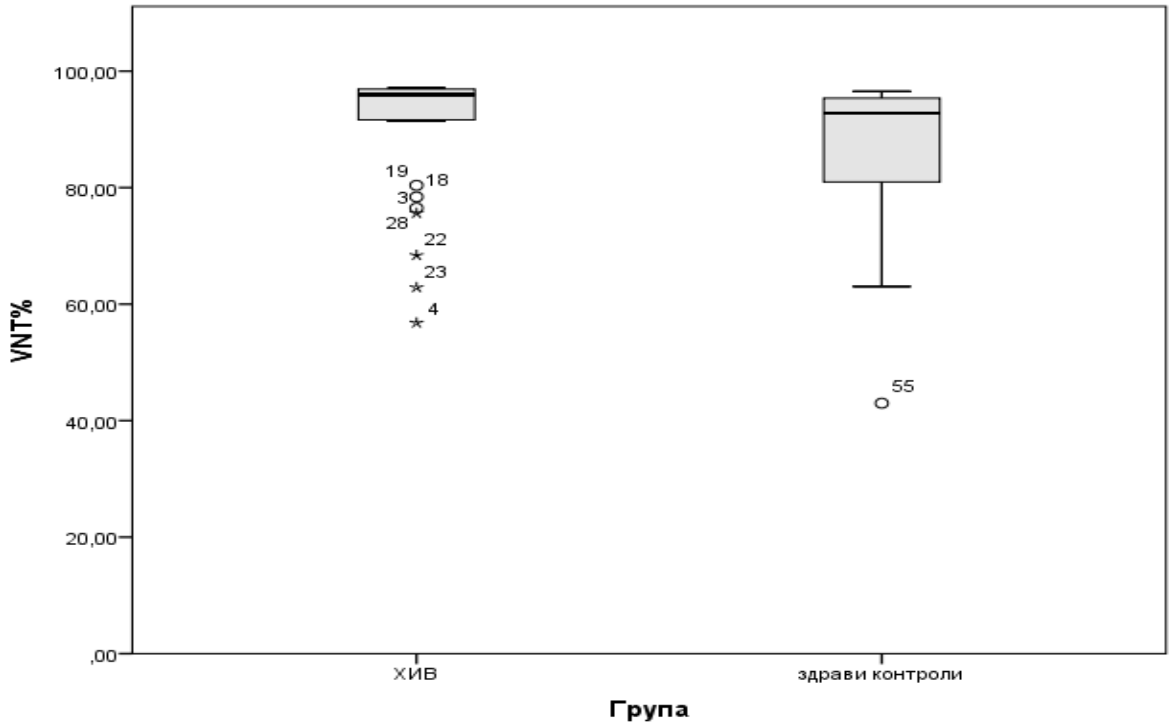
В контролната група са включени 21 лица със завършен ваксинационен курс, при които е приложен същият ELISA метод за оценка на вируснеутрализиращите антитела, изработени на втория постваксинален месец. Средната възраст на включените лица е 47 години (медиана 46, като варират от 19г до 76г) като дванадесет от тях (57,1%) са жени

и седем са мъже, всички живеещи на територията на гр. София. Разликата по пол между пациентите с HIV и здравите контроли е значима (p<0,001). Двете групи са с различна средна възраст, но тя не се доказа като статистически значимо различна (p=0,063).

Сравнихме средните нива на вируснеутрализиращите антитела на двете групи и установихме, че те са значимо различни (p=0,029), като са по-високи при пациентите с HIV в сравнение с лицата от контролната група – 90.40% спрямо 85.50%.

Таблица 2. Възраст, имунен статус, VNT %

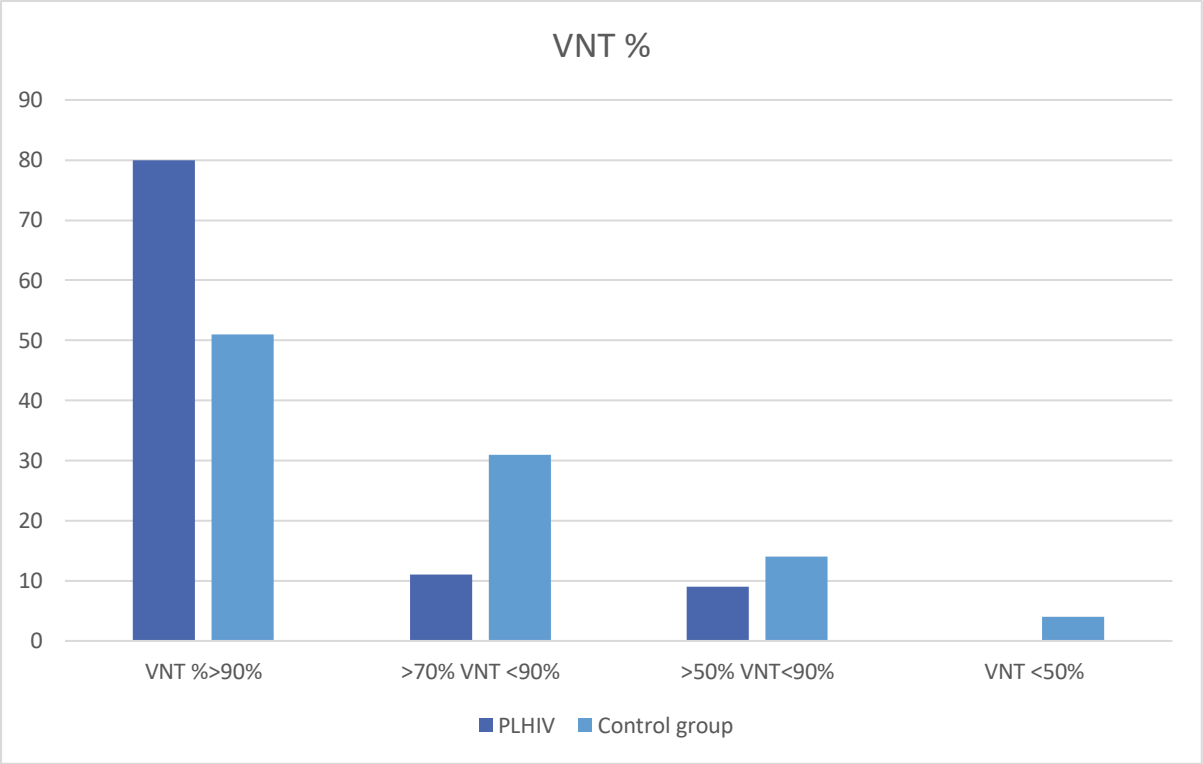
	Група								p
	PLHIV				здрави контроли				
	Средна аритметична	Медиана	Мин	Макс	Средна аритметична	Медиана	Мин	Макс	
Възраст	40,7	39,5	29	60	47	46	19	76	
VNT%	90,40	95,96	56,78	97,11	85,50	92,77	42,99	96,53	0.029
CD4	874	745	190	4500	-	-	-	-	-
VL	55	39	39	400	-	-	-	-	-



Фигура 3. Разпределение на резултатите на вируснеутрализиращите антитела

Получените данни са високо убедителни относно ефективността след приложението на векторната ваксина у пациенти, живеещи с HIV. Всички изследвани в проучването пациенти имат положителен (>30%) вируснеутрализиращ отговор като при 26/32(80%) имат >90%, 4/32 пациента (11%) имат резултат между 70-90% и само 3/32 пациента (9%) са с резултат в диапазона 50-70%. Направен е сравнителен анализ с резултатите, получени от изследваните серуми на лицата в контролната група. При тях също очаквано резултатите на всички са положителни (>30%) като при 10/19 лица (51%) са > 90%, 6/19 пациента (31%) имат резултат между 70-90%, 3/19 лица (14%) са в границите 50-70% и само 1/19 е с резултат под 50 %, а именно 42.99%. Пациентът с този най-нисък получен резултат е жена на 49 години, която не съобщава за придружаващи заболявания или смущения в имунитета. Тя е здрава, рядко боледуваща жена, без съпътстващи заболявания и отричаща наличието на вредни навици. Жената е проследявана и през следващите 2 години отрича да е боледувала от COVID-19, както и от други ОРЗ.

На последващата фигура са представени визуално резултатите от вируснеутрализиращите антитела в двете изследвани групи.



Фигура 4. Вируснеутрализиращи антитела при PLHIV и в контролната група

Резултатите, получени при изследването на серуми на PLHIV, са категорични по отношение на добрата ефективност и ниската до умерена реактогенност след поставянето на ваксината срещу COVID-19. Данните за хуморалния вируснеутрализащ отговор са високи, което говори за сигнификантната имуногенност на тази ваксина в конкретната популация. Имайки предвид проследяването и в контролната група и липсата на статистически значими разлики в нейна полза, може да се направи заключение, че хуморалният поствакcинален отговор у имуносупресираните пациенти не се различава от този, получен в общата популация.

2. РЕЗУЛТАТИ след ваксинация срещу сезонен грип тип A/B

През изминалия противогрипен сезон 2019/2020г противогрипната ваксина *InfluvacTetra* (Mylan) е субединична и съдържа пречистен хемаглутинин и невраминидаза от тип А грипни вируси H1N1, H3N2 и два типа грипни вируси В, според актуалните препоръки на СЗО.

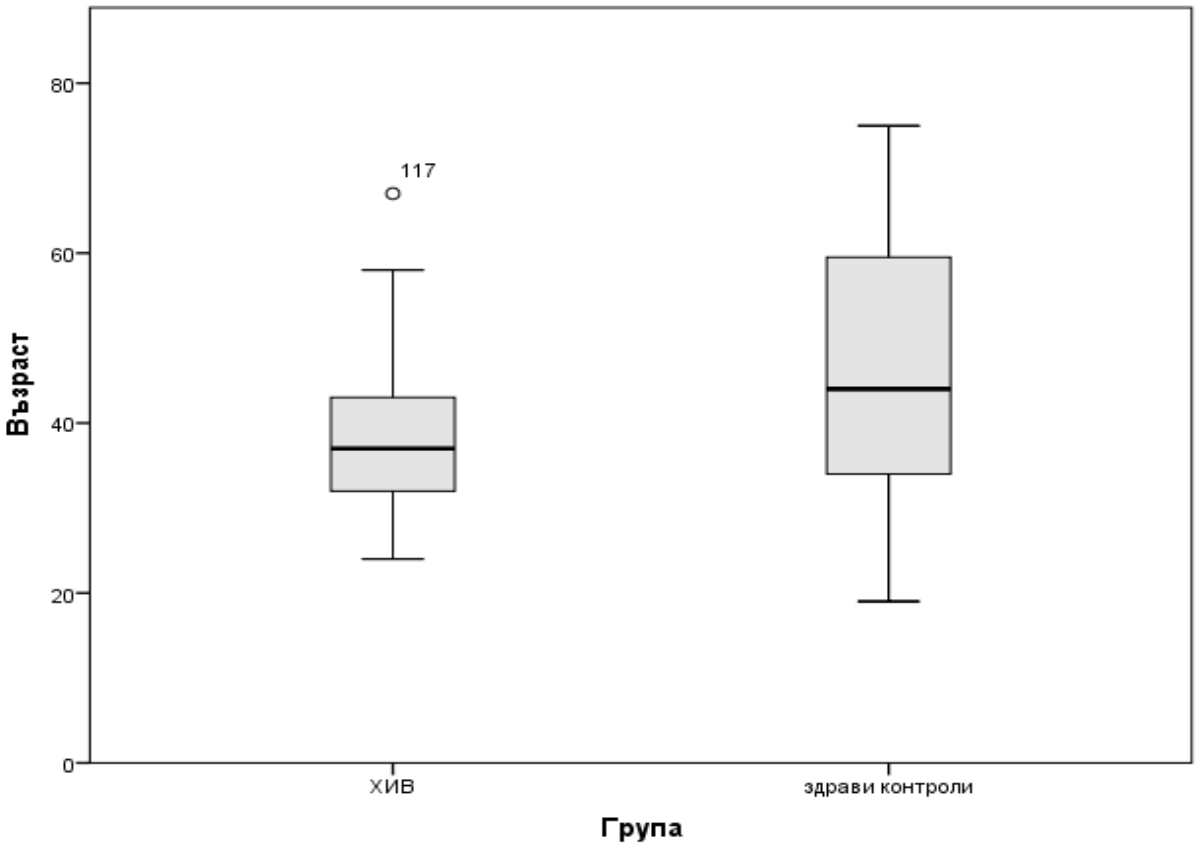
За сезона 2019/2020г общо 124 ваксини (*InfluvacTetra*, Mylan) бяха поставени на PLHIV и здрави контроли след анкетиране и информирано съгласие на пациентите.

Инфлувак е поставен за периода октомври – декември 2019г, като 87% от поставените ваксини са през м.октомври, 14% през м.ноември и 7% през декември 2019г. В настоящото проучване всички обхванати пациенти са на ART, тъй като вирусната супресия е изключително важно условие за постигане на добър имунологичен отговор. От включените ваксинирани 124 лица 73 са лица, живеещи с HIV и 51 са здрави контроли. Пациентите са ваксинирани чрез интрамускулно поставяне в делтоидния мускул на противогрипната ваксина, след нейното правилно съхранение и администриране според правилата за добра медицинска практика. След период от 4 - 6 седмици след ваксинацията на явилите се пациенти е взета венозна кръв, от която след центруфугиране е получен серум, използван за проследяване и анализ на антителния отговор. Изследваните серуми са на общо 110 лица (66 HIV+ и 44 контроли). Неявилите са за взимане на кръв са както следва – общо 14 (7 HIV, 7 контроли).

Ваксинираните общо 124, от които 73 лица, живеещи с HIV, са разпределени по пол както следва 66/73 (90%) мъже и 6/73 (8%) жени и 1/73 (1%) трансексуален. Лицата от контролната група са съответно 16/51 мъже (31%) и 35/51 жени (68%). На следващите таблици ваксинираните лица са разпределени по възраст, от което е видно, че най-голям брой хора са във възрастовия диапазон 30-39 годишни. Средната възраст на хората, живеещи с HIV е 38.5 години, а средната възраст на лицата от контролната група - 45.5 години. Ваксинираните HIV+ лица са от областите София, Пловдив, Пазарджик, Бургас, Благоевград, Хасково, Сливен, Смолян. Те са основно от мъжки пол (66/73) 90%, като почти всички принадлежат към групата на MSM. От всички 124 лица, 113 (88%) са работещи и водят активен начин на социален живот.

Таблица 3. Имунен статус, резултати anti-Flu A/B

	Група								p
	PLHIV				здрави контроли				
	Средна аритметична	Медиана	Мин	Макс	Средна аритметична	Медиана	Мин	Макс	
Възраст	38,5	37,0	24	67	45,5	44,0	19	75	0,014
CD4	727,9	650,0	124	1600	NA				
VL	3575,2	39,0	39	228217					
AB_Flu_A	105,9	111,5	11,00	201,00	113,8	116,1	14,83	191,88	0,500
AB_Flu_B	139,6	151,0	7,94	201,00	155,9	169,3	17,28	201,00	0,193



Фигура 5. Средна възраст на пациентите в двете групи

От изследваните серуми на 110 пациенти за грип положителните за грип А са 105/110 (95.4% от изследваните) и за грип В - 103/110 (93.6 % от изследваните), което потвърждава добра ефективност при хора, живещи с HIV и съвпада с данните за средния геометричен антителен титър при ваксинирани в общата популация според кратката характеристика на продукта *InfluvacTetra*. От ваксинираните 124 лица за грипен сезон 2019/2020г, 52/124 съобщават, че в предходни години също са поставяли противогрипни ваксини, като сред тях преобладават здравите лица от контролната група – 34/52. Ваксинираните и преди срещу сезонен грип PLHIV са 18/52. От получилите противогрипна ваксина 124 пациента, 30 съобщават, че често боледуват от ОРВИ - 18/30 са хора, живеещи с HIV и 12 лица от контролната група. Нашият опит, натрупан в хода на грипната ваксинация, показва един добър профил на безопасност и поносимост с единични леки нежелани събития и много добра ефективна антителна протекция след ваксината.

Пациентите са проследени за период от 1 година след имунизацията и няма нито един докладван случай на заразеност в сезона след ваксината.

При пациентите с HIV се потърси връзка между нивата на антитела срещу грип А и В и други показатели, които са изследвани при тях.

Не се доказа значима разлика по пол (сравнението е направено между мъжкия и женския пол, тъй като трансчовекът е само един) и показателите на пациентите ($p>0,05$).

Таблица 4. Разпределение по пол

	мъж				жена			
	Средна аритметична	Медиана	Мин	Макс	Средна аритметична	Медиана	Мин	Макс
Възраст	39	37	24	67	38	37	31	43
CD4	715	650	124	1600	841	768	584	1306
VL	3948	39	39	228217	62	39	39	178
AB_Flu_A	103,39	108,29	11,0	201,0	134,56	125,38	78,1	195,0
AB_Flu_B	137,79	151,00	7,94	201,0	149,40	131,8	113,4	201,0

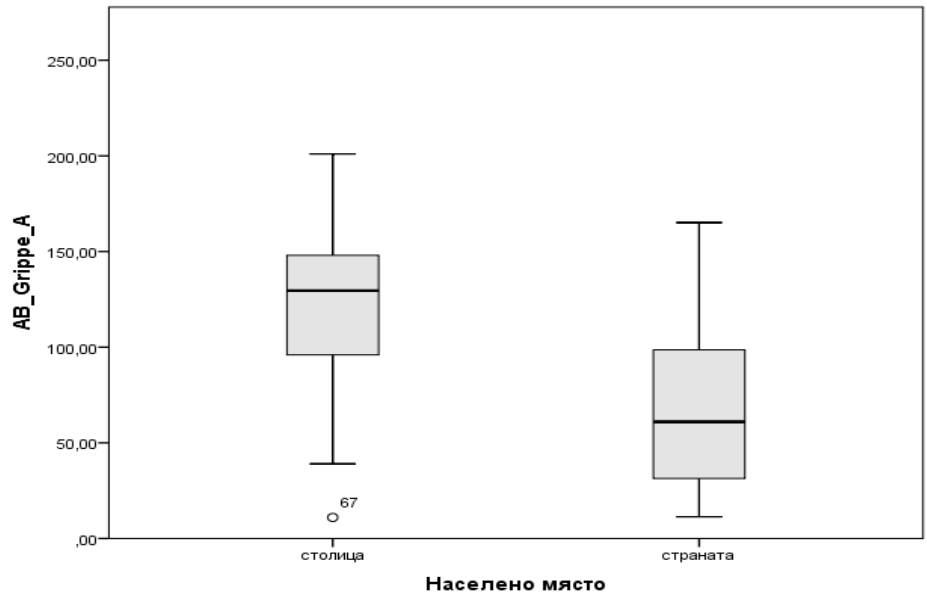
Нивата на антитела срещу грип А и В бяха преобразувани в три групи (отрицателни, гранични и положителни), както и в две групи, поради изискванията на статистическите методи за минимален брой лица в групите (отрицателни+гранични и положителни) и беше потърсена разлика между двете групи – пациенти с HIV и здрави контроли. Такава не се доказа ($p>0,05$).

Таблица 5. Резултати антитела грип A/B

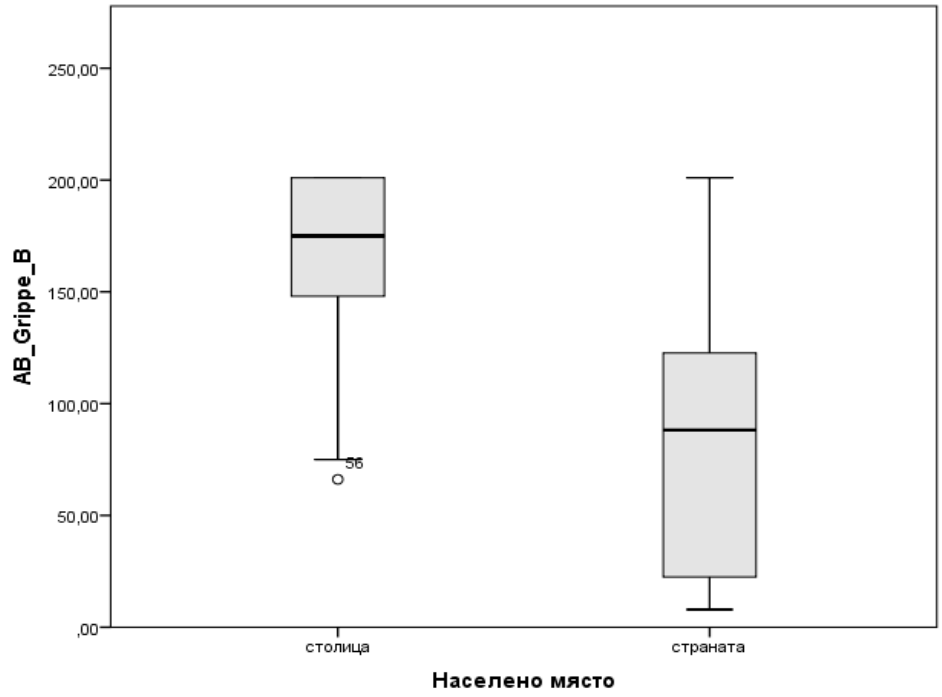
		Група			
		PLHIV		здрави контроли	
		n	%	n	%
AB_Flu_A	под 16	2	3,0%	1	2,3%
	16-21	2	3,0%	0	0,0%
	22 и повече	62	93,9%	43	97,7%
AB_Flu_B	под 16	4	6,2%	0	0,0%
	16-21	0	0,0%	2	4,5%
	22 и повече	61	93,8%	42	95,5%
AB_Flu_A	под 22	4	6,1%	1	2,3%
	22 и повече	62	93,9%	43	97,7%
AB_Flu_B	под 22	4	6,2%	2	4,5%
	22 и повече	61	93,8%	42	95,5%

Интересно е да се отбележи, че пациентите от страната имат значимо по-ниски средни нива на антителата и срещу грип А, и срещу грип В, в сравнение с тези от столицата ($p<0,001$). По останалите демографски характеристики двете групи са сходни. Редно е да се спомене, че пациентите, живеещи в столицата, се придържат по-добре към терапевтичните си режими, което разбира се може би е свързано с техния по-висок образователен статус, в сравнение с лицата от други населени места. Участие в противогрипната ваксинация имаха 48 лица, живеещи в София и 25 от други областни градове или малки населени места. Съпоставяйки ги по демографски характеристики е важно да се отбележи, че пациентите от страната имат значимо по-ниски средни стойности на CD4 клетки – 694 клетки, за сравнение с пациентите от София, където броят на клетките е средно аритметично 756 на участвалите пациенти. Логично обратно пропорционална е зависимостта с вирусния товар, който при пациентите от столицата, придържайки се по-строго към препоръчваните терапевтични режими, има средна стойност от 46 копия/мл, а при лицата от другите населени места – средният вирусен товар е 10351 копия.

Разликите в имунния статус на обследваните пациенти и взимайки под внимание включените от страната лица от малцинствени групи, затвори и други социални заведения, полученият по-нисък антителен отговор поствакcинално при тях не е учудващ. Тези не толкова добри резултати при пациентите от страната, в сравнение с резултатите на пациентите от гр.София, най-вероятно се дължат на гореизброените причини и се потвърждават от литературните данни за по-неефективен поствакcинален отговор у лица с известна имуносупресия.



Фигура 6. Резултати антитела грип А спрямо местоживеене



Фигура 7. Резултати антитела грип В спрямо местоживеене

Доказа се слаба отрицателна корелация между нивата на вирусния товар и антителата срещу грип В (Spearman's rho= -0,255, p=0,039). Доказа се умерена по сила връзка между нивата на антитела срещу грип А и В (Spearman's rho=0,456, p<0,001), представена на следващата таблица.

Таблица 6. Резултати антитела грип A/B

		Възраст	CD4	VL	AB_Flu_A	AB_Flu_B
Възраст	Spearman's rho	1,000	0,049	-0,100	0,124	0,057
	p		0,681	0,401	0,322	0,651
	N	73	73	73	66	66
CD4	Spearman's rho	0,049	1,000	-0,077	0,113	0,159
	p	0,681		0,518	0,368	0,203
	N	73	73	73	66	66
VL	Spearman's rho	-0,100	-0,077	1,000	-0,125	-0,255
	p	0,401	0,518		0,318	0,039
	N	73	73	73	66	66
AB_Flu_A	Spearman's rho	0,124	0,113	-0,125	1,000	0,456
	p	0,322	0,368	0,318		0,000
	N	66	66	66	66	66
AB_Flu_B	Spearman's rho	0,057	0,159	-0,255	0,456	1,000
	p	0,651	0,203	0,039	0,000	
	N	66	66	66	66	66

3. РЕЗУЛТАТИ след ваксинация срещу хепатит A/B

Извършването на противохепатитна ваксинация и проследяване на хуморалния имунен отговор в специфичната популация представлява основна задача в настоящия труд. Обхванати са пациенти в разнородни възрастови групи от 10 годишна възраст до 60+ години като са разпределени според пол, възраст, образователен ценз и други демографски данни. След проведено кратко обучение на пациентите относно ползите и рисковете при ваксинация срещу хепатит A/B, същите са анкетирани с въпросник за осведомеността им относно HIV инфекцията и рисковете, свързани с нея. Също така са събрани данни за предходни имунизации на пациентите, данни за наличие на минали или хронични инфекции с HAV/HBV/HCV. След това е попълнено информирано съгласие за участие и доброволно имунизиране по предложената имунизационна схема, като противохепатитните имунизации и проследяване са извършени в периода октомври 2019г – март 2021г. Според периода на включване на пациентите е направено и пробовземане на венозна кръв с цел изследване на получения серум за титър на anti-HBs и anti-HAV. Включени в изследването са общо 168 лица, от които 102 PLHIV и 66 здрави

контроли. Общо 116 лица, от които 75 PLHIV и 41 контроли, основно медицински специалисти, са ваксинирани. Всички пациенти са разпределени в отделни групи според броя на получените ваксини, както и антигенното натоварване при прилагането на двойна доза. В изследването взимат участие лица, при които е поставена противохепатитна ваксина при раждането (за родените след 1992г) или по-късно през живота. При тях е изследвано нивото на хуморалния им имунен отговор и на неимунните с титър anti-HBs <10 mIU/ml е поставена бустерна доза. След извършване на бустерна реимунизация, пациентите отново са повикани за повторно взимане на кръв и изследване на получените серуми. Използвани са две ваксини: моновалентната ваксина *Engerix (GlaxoSmithKline),* съдържаща 20 μg от повърхностния антиген HbsAg, прилагана съответно в единична или в двойна доза (общо 40 μg), както и комбинираната ваксина за хепатит А и хепатит В - *Twinrix (GlaxoSmithKline)* в стандартната схема на приложение на 0, 1, 6 - месечен интервал.

От анкетираните 166 лица и от двете групи прави впечатление, че 33/166 (19%) съобщават, че никога не са се изследвали за хепатитни вируси, от които 13 лица са със завършено средно образование, две са деца на възраст съответно 10 и 11 години с начално образование, а останалите 18 анкетирани – с висше. От включените в проучването 4/166 (2%) са подали информация за боледуване от хепатит С инфекция, като прави впечатление, че нито един от тях не принадлежи към малката, но все пак значима група на ИУН. Всички 75 PLHIV са били на ART към момента на ваксинацията, като по-голямата част от тях са с добро придържане към терапията и с неоткриваем вирусен товар (VL). От включените пациенти 74 имат CD4+ Т-лимфоцити >350 cells/mm3. Тъй като на някои пациенти е поставена само бустерна доза, са направени две сравнения: след завършен/незавършен курс и след завършен/незавършен курс и/или бустер.

Резултати anti-HBs при PLHIV

Пациентите със завършен ваксинален курс са 62/75 (81%), а са изследвани за anti-HBs 72/75. Получени са положителни резултати при 57/72 (79%). Като заключение е приложен бустер поради недостатъчен anti-HBs отговор при само 3 PLHIV със завършен ваксинален курс в хода на проучването (и тримата с неоткриваем VL и високи CD4+ Т лимфоцити) и поставянето на 2 бустерни дози при пациенти, ваксинирани преди >10 години.

Средната възраст на PLHIV е 38г, а на лицата от контролната група 42 години. Има значима разлика по отношение на пола, като пациентите от групата на лицата, живеещи с HIV, са предимно от мъжки пол – 87.9%, основно MSM, 10.1% са жени и 2 % са транс. От контролната група преобладават лицата от женски пол – 67.2%. И в двете групи са включени лица от различни части на страната, като 56.6% PLHIV и 67.2% от контролната група са от град София. Останалите пациенти са от други области на страната – Пловдив, Пазарджик, Хасково, Смолян, Бургас. По отношение на образователния ценз пациентите с HIV са както следва 53.5% (висше образование), 41.4% (средно), 5.1%(основно), съответно в контролната група са 77.6% (висше), 20.9% (средно), 1.5% (основно).

Приложени са следните ваксинални режими както следва:

- Завършен курс с *Twinrix, Engerix (GSK)* по стандартна схема на 0, 1, 6м.
- Завършен курс с *Engerix* съдържаща 20 μg от повърхностния антиген HbsAg в двойна доза (общо 40 μg)
- Незавършен курс на ваксинация поради лошо придържане от страна на пациента
- Завършен курс включително с бустерна доза от съответната ваксина.

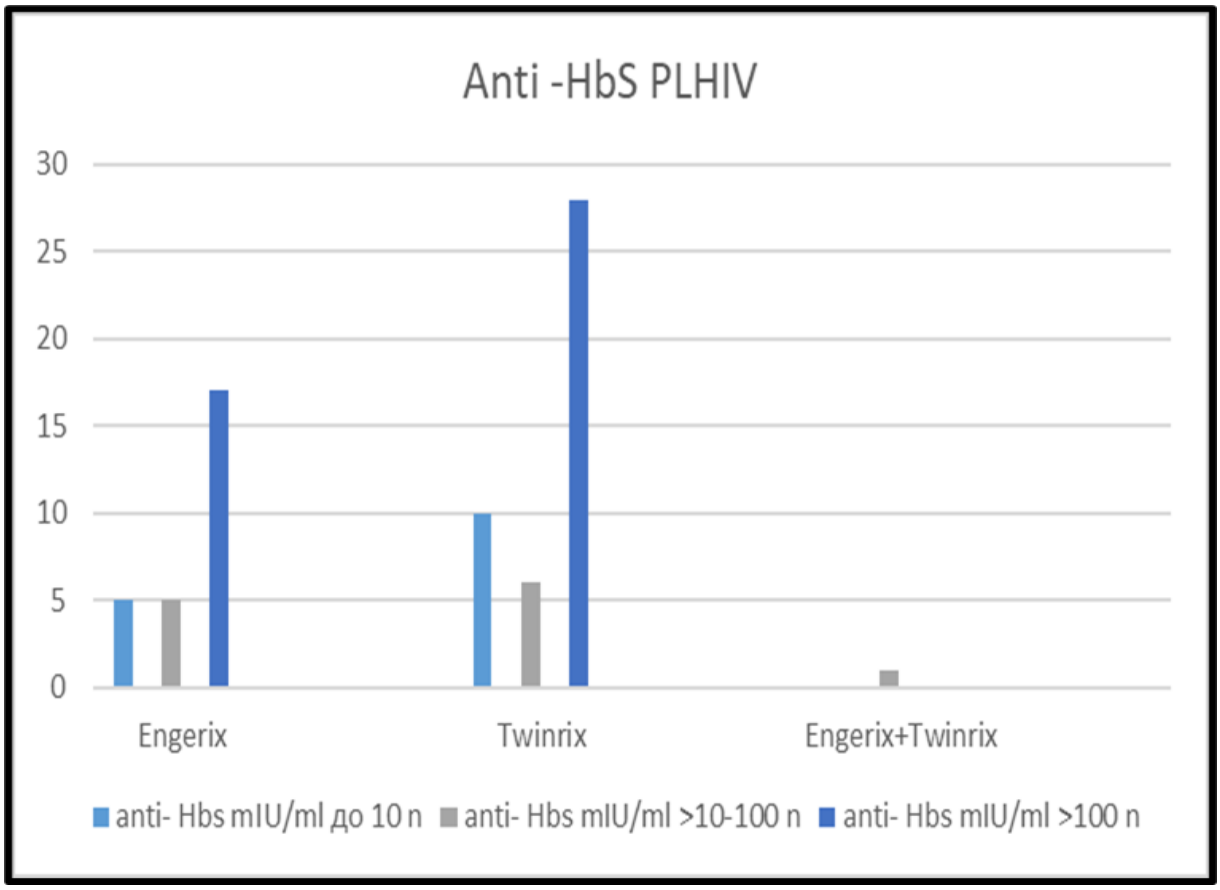
На последвалата таблица са представени пациентите според тяхното разпределение в съответните групи. Преобладават пациентите, ваксинирани с комбинираната ваксина – 46 лица (46.5%), спрямо тези с моновалентната хепатит В ваксина – 28 пациента (28.3%). Очаквано не при всички пациенти успя да се завърши препоръчваният в три апликации пълен ваксинален режим, като лицата с непълен курс са 5 (5.1%), само от групата на PLHIV. При 13 (13.1 %) лица от таргетната група се приложи апликация на *Engerix* с общо антигенно натоварване от 120 μg (6 дози от ваксината), а на 7 (7.1%) лица след завършване на ваксиналния курс се наложи прилагането и на бустерна доза от съответната ваксина. Двете групи на PLHIV и контроли са сравнени по отношение на антителата, които са отчетени като „до 10 mIU/mL “; „>10-100mIU/mL “ и „>100mIU/mL “ за anti-HBs и „<20mIU/mL “ и „>=20mIU/mL “ за anti-HAV. Тъй като на някои пациенти е поставена само бустерна доза, са направени две сравнения: след завършен/незавършен курс и след завършен/незавършен курс и/или бустер.

Таблица 7. Ваксинални режими

	HIV/Healthy			
	HIV		здрави контроли	
	n	%	n	%

Ваксина Хепатит	Engerix	28	28.3%	12	17.9%
	Engerix+Twinrix	1	1.0%	2	3.0%
	Twinrix	46	46.5%	27	40.3%
	не/боледувал	24	24.2%	26	38.8%
Ваксина Хепатит	бустер	0	0.0%	2	3.0%
	непълен курс	5	5.1%	0	0.0%
	непълен курс + бустер	1	1.0%	1	1.5%
	пълен курс	49	49.5%	29	43.3%
	пълен курс - двойна доза	13	13.1%	3	4.5%
	пълен курс + бустер	7	7.1%	6	9.0%

Пациентите със завършен ваксинален курс са 62/75 (81%), а са изследвани за anti-HBs 72/75 като са получени положителни резултати при 57/72 (79%). От графично представените резултати прави впечатление, че преобладават пациентите с получен максимален резултат >100 mIU/ml.



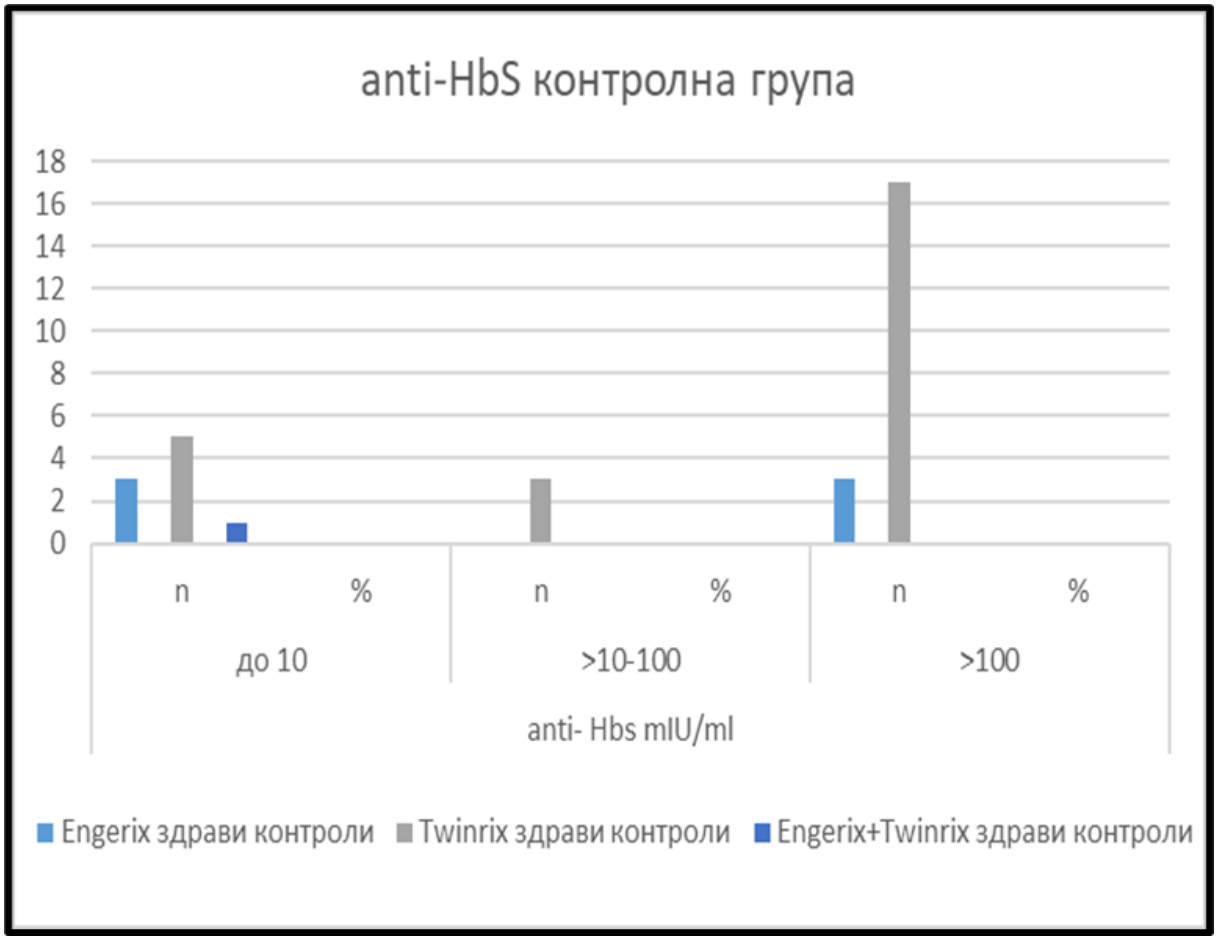
Фигура 8. Резултати anti-HBs при PLHIV

Таблица 8. Резултати anti-HBs при PLHIV

			anti- Hbs mIU/ml					
			до 10		>10-100		>100	
			n	%	n	%	n	%
Engerix	HIV/Healthy	ХИВ	5	62,5%	5	100,0%	17	85,0%
		здрави контроли	3	37,5%	0	0,0%	3	15,0%
Twinrix	HIV/Healthy	ХИВ	10	66,7%	6	66,7%	28	62,2%
		здрави контроли	5	33,3%	3	33,3%	17	37,8%
Engerix+Twinrix	HIV/Healthy	ХИВ	0	0,0%	1	100,0%	0	0,0%
		здрави контроли	1	100,0%	0	0,0%	0	0,0%

По – подробно ще разгледаме 15 лица от PLHIV, при които е получен нисък anti-HBs резултат <10 mIU/ml. Предполагаемите причини могат да се обединят около няколко фактора: нисък комплаянс и съответно незавършен ваксинален курс, което наблюдаваме при двама от получилите негативен резултат. Сред изследваните има и такива, ваксинирани с пълен курс, но с давност повече от 10 години. Това се наблюдава при 7 лица. Интересни са и резултатите от групата на ваксинираните с пълен курс двойна доза *Engerix* и след това получен отрицателен резултат, което наблюдавахме при трима от изследваните пациенти. Единият е с неадекватна вирусна супресия (VL=228217 copies), известна имуносупресия CD4+ - 124 cells/ mm3, което е очакван резултат. При останалите двама с недобър хуморален отговор не се установиха данни за имунна супресия. Техният резултат може да бъде разтълкуван и съответно категоризирани в групата на нон-респондъри на ваксината, едва след изследване на клетъчния им имунен отговор. От ваксинираните с пълен курс с *Twinrix* – при трима има отрицателен отговор, след това успяхме да поставим при двама от тях бустер доза от ваксината, която се оказа достатъчна. Получените им резултати от повторното серологично изследване са съответно - 62.76 mIU/ml, 13.44 mIU/ml. Тези резултати, въпреки хетерогенността на групите и липсата на възможност за постигане на максимален обхват на пациентите,

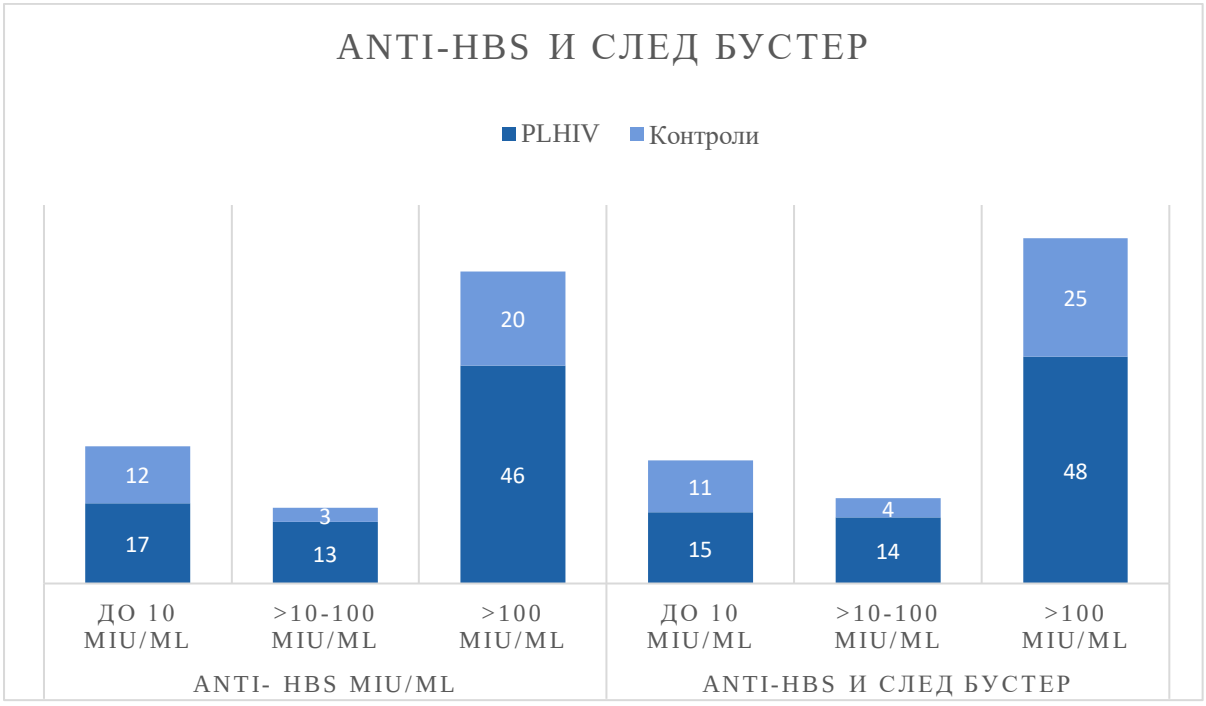
потвърждават необходимостта от ваксиниране в таргетната група и сигнификантните нива на хуморална защита, която наблюдавахме. В заключение бихме могли да кажем, че от всички пациенти след ваксините за вирусни хепатити А и В, получихме много добри и впечатляващи резултати при почти всички с изключение на трима пациенти, живеещи с HIV, въпреки добрия им имунен статус. Разглеждайки резултатите на лицата от контролната група прави впечатление, че от обхванатите 41 пациенти, от които със завършен ваксинален курс са 32/41(78%), а пациентите и с бустерна ваксина са 7. От обхванатите са изследвани 32/41 (78%). От изследваните при 23 пациента резултатите са положителни >10 mIU/ml, при останалите 9 няма протективен имунитет, би следвало да се приложи четвърта доза като бустер, която в последствие е направена.



Фигура 9. Резултати anti-HBs при контролната група

Поставени са общо 14 (8 при PLHIV, 6 контроли) бустерни дози в различен времеви интервал в хода на проучването, 2 от които с *Engerix* в контролната група и останалите 12 от комбинираната ваксина. Прави впечатление, че след наличието и на бустерна доза

са изследвани 7 серумни проби от таргетната група, от тях при 4/7 резултатите са положителни, дори >1000 UI/ml при двама. В контролната група са изследвани 7 серумни проби, а резултатите при 6 потвърждават ефективна хуморална протекция за хепатит В след допълнителната доза. При тълкуването на резултатите стигнахме до извода, че един пациент се оказва с непълен курс, дал подвеждаща информация при анкетирането за ваксиниране при раждането, което обаче е било преди 1992г. Поради това той е останал обхванат само от 1 ваксина и очаквано тя не е достатъчна.



Фигура 10. Резултати след бустерна доза

Представените резултати потвърждават необходимостта от провеждането на контролни изследвания след завършен ваксинален курс и нуждата от поставянето на допълнителни дози в изследваната популация. При всички пациенти с HIV, при които се е наложило поставянето и, вирусният товар е под прага на детекция, а нивото на CD4 лимфоцитите се задържа високо (най-нисък резултат – 535 клетки).

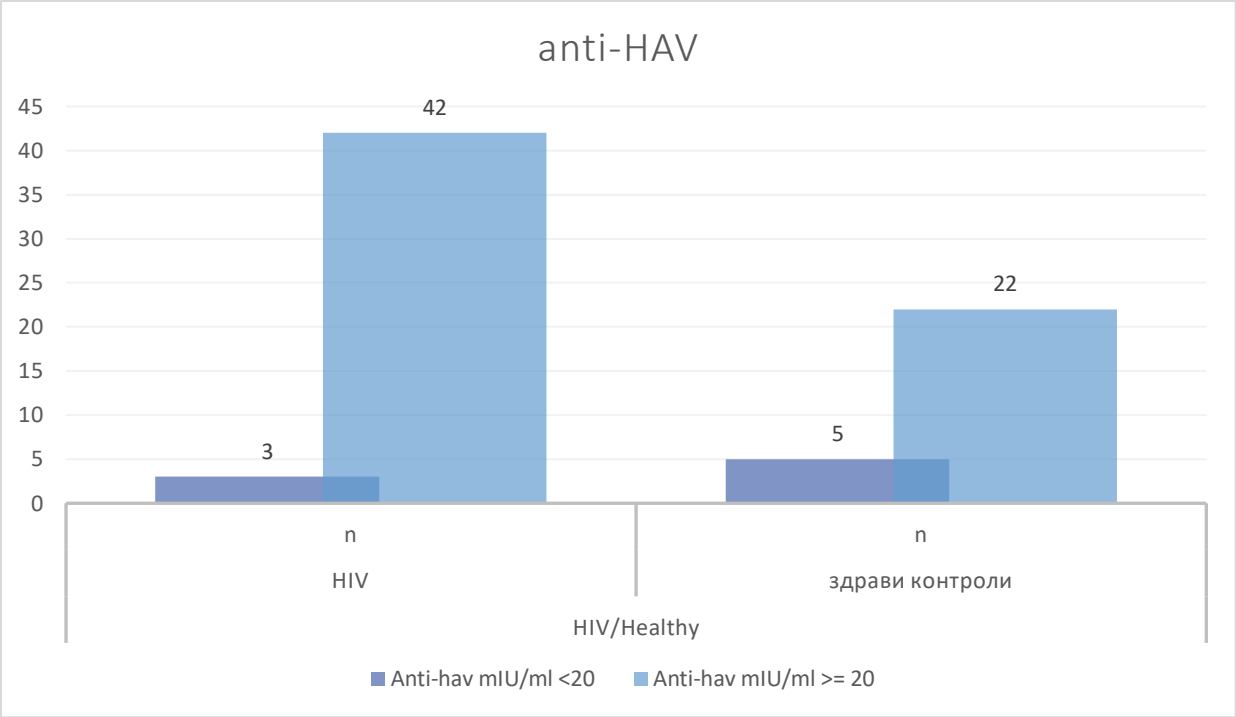
Таблица 9. Резултати преди и след бустерна ваксина

		HIV/Healthy				P
		HIV		здрави контроли		
		n	%	n	%	
anti- Hbs mIU/ml	до 10 mIU/ml	17	22,4%	12	34,3%	0,278
	>10-100 mIU/ml	13	17,1%	3	8,6%	
	>100 mIU/ml	46	60,5%	20	57,1%	
anti-HBs и след бустер	до 10 mIU/ml	15	19,5%	11	27,5%	0,385
	>10-100 mIU/ml	14	18,2%	4	10,0%	
	>100 mIU/ml	48	62,3%	25	62,5%	

Резултати anti- HAV

Обратно на нашите предположения, резултатите по отношение на хепатит А са по-добри при групата на PLHIV, като само 3 лица (10.6%) имат непротектиращ отговор за сравнение от контролната група са 5 (29%). За непротектиращ имунен отговор се приема резултат anti-HAV <20 IU/ml, като и тримата са ваксинирани с комбинираната ваксина и имат адекватна вирусна супресия (<40/48 копия) и високо ниво на CD4, съответно 1050, 640, 411 клетки. Резултатите показват, че има значима връзка между здравния статус (пациент с HIV или здрава контрола) и антителата срещу хепатит А (p=0,038). Сред пациентите с HIV е значимо по-висок (89,4%) относителният дял на тези с положителен имунитет (> = 20 IU/ml), в сравнение със здравите контроли (71%) което е представена на фигурата по-долу.

По отношение на имунитета срещу хепатит В такава зависимост не се доказа (p>0,05).



Фигура 11. Резултати anti-HAV mIU/ml

Коинфекция HIV+HCV

Интерес представляват съобщенията, че наличието на коинфекция с HCV се свързва с по-малка вероятност за отговор към ваксината срещу HAV при пациенти с брой на CD4 клетките <200 клетки/mm3. Подобни данни има и за влиянието на HCV коинфекцията върху имунния отговор след три дози от ваксината за хепатит B.

В нашето проучване бяха включени 4 пациенти с коинфекция HIV/HCV. От събраните от тях данни става ясно, че един от лицата е боледувал и HBV, другият не е ваксиниран за хепатит A и B. Останалите двама (с адекватна вирусна супресия и високи CD4 > 800) са ваксинирани с пълен курс *Twinrix* ваксина през 2010г и 2011г съответно, а получените резултати за anti–HbS, anti-HAV са противоречиви. При единият има недостатъчен отговор на anti–HbS – а именно <3.10 mIU/ml, а другият – обратно – адекватна защита - 122.8mIU/ml. По отношение на протективния титър на anti-HAV и двамата са с отлични резултати - >100 mIU/ml. Разбира се пациентите в тази група са много малко, от което не може да се направи извод и резултатите да се приемат за статистически значими.

5. ДИСКУСИЯ

Настоящето проучване е единствено по рода си за България, проведено в популация с придобита и лекувана HIV-индуцирана имуносупресия, като се поставиха съмнения относно субоптималния имунен отговор след приложение на различни ваксини и ваксинални режими. Считаме извършените изследвания и установените положителни резултати за достатъчно убедителни относно ефективността на приложените ваксини в таргетираната популация. Получени са категорично сигнификантен хуморален имунен отговор след приложението на противогрипните, противохепатитните и ваксините срещу COVID-19 при PLHIV и липса на статистически значими разлики в сравнение с общата популация. Препоръките за ваксиниране срещу COVID-19 в различните държави са разнообразни. В международно проучване, изучаващо националните стратегии и ваксинални подходи, все повече страни от Централна и Източна Европа, популацията се посочва като приоритетна за ваксиниране срещу вируса SARS-CoV-2. Само при три от участвалите страни (Гърция, Сърбия и Чехия) се съобщава за разработени национални препоръки за ваксиниране срещу COVID-19 на лицата, живеещи с HIV, но прави впечатление, че при 8 от всички 21 участвали страни, тази специфична популация е включена в приоритетните за ваксиниране [***Error! Reference source not found.***. *et al., 2021*]. Именно поради гореизброените фактори осъществяването на ваксинацията още в първите месеци след одобряване на ваксините, както и проследяване на ефективността им след това, прави проучването иновативно и навременно.

С оглед на получените резултати, може да се каже, че първоначалното допускане за наличие на съществени различия в ефективността или времето на поява на хуморалния отговор при лица, живеещи с HIV, не се различава съществено от резултатите в общата популация. Очаква се имунният отговор при пациенти с по-напреднал стадий на имуносупресия (при CD4+<200 клетки/ mm3) да не бъде задоволителен, но специално при нашия пациент това не се потвърди. Напротив, неговият резултат на вируснеутрализиращите антитела след приложението на ваксината на AstraZeneca е 93.29%. Прави впечатление, че при двама от пациентите на възраст съответно 60г и 59г се наблюдава по-нисък процент на отговора - съответно 68.38% и 62.86%, но поради недостатъчният брой лица на тази възраст, включени в проучването, не би могло да се направи извод за обратнопропорционална зависимост на резултата спрямо възрастта.

В някои изследвания, проведени в популацията на лица над 80 години, се изказват притеснения относно вероятна по-ниска ефективност на различни ваксини. От съобщените данни средната ефективност е малко по-ниска в сравнение с данните за общата популация, например за BNT162b2 и ChAdOx1-S, съответно 61% (51% до 69%) и 60% (41% до 73%). Въпреки това се отчита като положителен резултат, защото дори поставянето на една доза от която и да е от гореспоменатите ваксини, редуцира с 80% риска за COVID-19 – свързана хоспитализация, а в 85% предпазва от смъртен изход от заболяването [*Lopez Bernal J. et al., 2021, Hyams C. et al., 2021*].

И при двамата ни пациенти, останали с една доза и взели участие в изследването след това, единият развил клинична форма на заболяването в лека степен след първата ваксина, а другият - заболял през месец ноември 2020, се наблюдават високи нива на вируснеутрализиращата активност – съответно 76.50% и 96.55%.

По отношение на нежеланите реакции постваксинално в проучване, изследващо реакциите у 1569 лица, ваксинирани с ChAdOx1 ваксина, се съобщава за локална болка, треска, обща отпадналост и мускулни болки, отминаващи до 2 дни постваксинално. Съобщени са и други – сърцебиене, гръдна болка, диария, коремна болка, но в значително по-нисък процент [*Ahmed N. Alghamdi et al., 2021*]. При нашите пациенти подобни оплаквания не се регистрират. В друго изследване на *Deep Kamal et al., 2021,* включващо 981 здравни работника, ваксинирани с две дози от ваксината ChAdOx1, са проследени активно и пасивно на 48-я час, на 8-ми, 15-ти, 22-ри, 28-ми ден след ваксинацията. Съобщени са най-голям брой от нежелани ефекти след ваксинацията в първите 48 часа, което наблюдаваме и при нашите пациенти. Нежеланите събития са леки до умерени и се регистрират до две седмици след приложението и на двете дози, което доказва безопасността и ниската реактогенност на ваксините при участвалите лица. При участвалите пациенти, ваксинирани с *Vaxzevria* и с известен вирусен товар леко над прага на детекция, функционалното състояние на имунната система е такова, че тя реагира напълно ефективно на ваксината. Този извод се потвърждава и от липсата на статистически значими разлики в хуморалния имунен отговор на PLHIV и контролната група и позволява да се предприема ваксинация срещу всякакви възможни опортюнистични бактериални/вирусни инфекции. Получените данни заедно с повишения риск от нужда от хоспитализация при COVID-19 сред PLHIV, както и по-висока смъртност при хоспитализираните, са красноречиви по отношение на

необходимостта от провеждането на приоритетна ваксинация в посочената група [*Anna Maria Geretti et al.****Error! Reference source not found.****]*.

Ефектът от приложението на грипната ваксина при PLHIV се определя от следните правила:

- Ваксиналният имунен отговор е намален при CD4+ Т клетки <300/µl, а не се очаква такъв при CD4+ Т клетки <100/µl.
- При пациенти с добра вирусна супресия имунният отговор е независим от броя на CD4+ клетките [*HIV book 2015/16; M.C Rousseau et al*.].

Получените от нас резултати на 110 от пациентите, живеещи с HIV, посочват сигнификантната имуногенност на използваната ваксина в тази популация - 97% от изследваните са положителни за антитела срещу грип А, а 96 % - за антитела срещу грип А.

С оглед на по-широкото разпространение на сексуално-преносимите инфекции, включително HBV, HCV, HIV и респираторни вируси, употребата на венозни наркотици, както и недостатъчната хигиена и полова култура при лишените от свобода и задържаните под стража лица, обръщаме внимание на известните в литературата данни и настоящите препоръки за превенция и лечение. Тези характеристики, както и рискови поведенчески прояви ги правят особено уязвима група за разпространение на заразни болести. Лишените от свобода и задържаните под стража лица по смисъла на българското законодателство са със запазени права на здравно осигуряване и достъп до здравни грижи, съгласно Закона за здравното осигуряване. Това противоречи в известна степен на обществените нагласи и настроения, които са склонни да маргинализират тези групи, но не освобождава от задължения медицинските специалисти и лечебни заведения да изпълняват необходимите дейности по превенция, контрол на заразните болести и мерки по тяхното ограничаване и лечение съобразно международните стандарти за третиране на лишените от свобода [*Аргирова Р, 2015г*].

В ретроспективно проучване в три затвора в Испания за десетгодишен период от 2008-2018г е изследвано ваксиналното покритие за хепатит А, В, грип, ТД, пневмококи. Установено е, че 98.2 % от задържаните не са имунизирани срещу хепатит А, ваксинираните за хепатит В са 52.3 %, от които при 75% е завършен коректно ваксиналният курс. По време на това проучване на затворниците е предложена ваксина

за сезонен грип, като увеличаване на търсенето и се забелязва след пандемията от H1N1 през 2009г, а ваксиналното покритие тогава достига едва 16.2 %. Установено е, че 7.8% от затворниците са инфектирани с HIV и 20.5% - с HCV [*Vicente-Alcalde N et sl. 2020*]. За сравнение в проучване от 2013г в България на Т. Върлева и колектив, при изследвани 658 лишени от свобода лица, предимно от мъжки пол, над 70% са положителни за anti-HAV, при 60.2 % се откриват anti-HBc и при малко по-малко от 30% anti-HCV антитела. Като носители на HIV се установяват 4 лица – 0,6 %, което е малко по-ниско от средния процент на HIV + лица сред затворниците - 1% според големи проучвания, а е най-висок сред лицата, употребяващи венозно наркотици и на второ място след тях се нарежда групата на MSM. Големият процент на хора, позитивни за HBV, HCV в затворените колективи, се дължи основно на интравенозна употреба на наркотици, непротективни сексуални контакти и други рискови практики [*Popov G. et al., 2013*]. В затвора в гр. Пазарджик са анкетирани и изследвани 40 лица за anti-HEV IgM и IgG като са установени у 8 лица (20%) серологични данни за инфекция с хепатит Е като всички те са били положителни и за anti-HAV [*Pishmisheva M. et al., 2017*].

Поради естеството на затворените колективи, циркулацията на респираторни вируси там предразполага по-бързото им разпространение, поради което лицата, лишени от свобода и особено тези, принадлежащи към рисковите групи за развитие на тежко заболяване е нужно да са с приоритет за ваксината срещу сезонен грип [*Vicente-Alcalde N. et al.,2020*].

В нашето проучване е включено едно лице, лишено от свобода, с незадоволителен контрол на HIV вируса, употребяващо венозни наркотици и лошо придържане към терапията от страна на пациента. Проявихме желание за обхващане и на други задържани под стража и лишени от свобода лица, но поради ограничен достъп, наличие на други фактори, не бяхме допуснати до институцията. От гледна точна на научно-практически интерес и с цел повишаване на здравната култура и гарантиране на задоволителен ваксинационния обхват в затворените институции са необходими допълнителни мерки за контрол на заразните заболявания при тази маргинализирана група лица.

По отношение на ефективността на антителния имунен отговор след ваксините за хепатит е уместно да разгледаме възможните причини за липса на имунитет при пациентите от контролната група. Единият пациент е получил само 1 доза *Twinrix*, което разбира се е неефективно. Трима са ваксинирани при раждането си с *Engerix* с давност >20г, съответно антителата им са изчерпани. Петима, ваксинирани с пълен курс *Twinrix* съответно през 1996/2001/2016/2017/2019г. Най-вероятната причина за необходимостта

от поставянето на допълнителни дози се крие в давността на първоначалната имунизация, а именно – в различни срокове при раждането или по друг повод. Идентични според нас са и причините за изчерпване на хуморалния имунен отговор и при лицата от таргетната група. Дори в някои от субгрупите при PLHIV при отделните ваксини и ваксинални режими срещу хепатит A/B, резултатите са по-високи в сравнение с тези от контролната група.

В проучването ни са включени пациенти с хроничен хепатит В и С коинфекции, за които профилактиката е от особено значение. Обект на допълнителни научни разработки остават проследяването на хуморалния имунен отговор при изследваните пациенти с оглед на неговата продължителност във времето, както и споменатите изследвания за Т-клетъчен имунитет при лицата с отрицателен резултат по отношение на антителата anti-HBs.

В проучване на *Shive CL* и колектив, проведено 2017г в САЩ, се съобщава за обратно пропорционална зависимост между измерените преваксинално плазмени нива на възпалителни маркери IL-6, sCD14, sCD163 и IP10 и антителния отговор след HAV/HBV (*Twinrix*), както и ТД ваксина при нелекувани HCV позитивни (n=15), HIV-позитивни без ART (n=24) и контролна група от 10 лица. Авторите съобщават и за обратно пропорционална зависимост между възрастта на участниците и anti-HAV/anti-HBV отговорът. В друго проучване на *Tsai PH* от Тайван (2022г) се установява по-нисък отговор при еднодозов режим на ваксина срещу HAV, в сравнение с две дози, както и по-ниска сероконверсия сред групата на коинфектирани с HBV/HCV. Интерес представляват и проучванията при PLHIV, при които се среща феноменът изолиран anti-HBcore като маркер на инфекцията с HBV. Неговото наличие, съчетано с липса на HbS антигена, се среща по-често сред имуносупресирани пациенти като остава дискутабилен въпросът дали пациентът да започне терапия при висок риск или да се проведе профилактична ваксинация при пациентите с по-нисък риск. Това разбира се зависи и от нивото на измерената HBV ДНК [*Moretto F. et al., 2020*]. Важно е да се спомене, че пациентите с HIV/HCV по литературни данни е по-малко вероятно да отговорят с високи титри на anti-HBs антителата (71%) след ваксинация със стандартен режим при HCV – отрицателни пациенти и 42% при тези с коинфекция HCV/HIV или антитела 200 IU/L в първата група и 46 IU/L във втората група пациенти [Rajesh T. Gandhi et al., 2005**Error! Reference source not found.**].

В литературата е установено, че коинфекциите HIV и HCV се характеризират с неефективен Т-клетъчен отговор, което има важно значение за протичането на опортюнистичните инфекции. Активирането на наивните CD4 лимфоцити и превръщането им в активни ефекторни или регулаторни Т лимфоцити в резултат на различни антигенни стимули, подлежи на стриктна регулация, а съществуването на HCV коинфекция при PLHIV нарушава този баланс. В проучване на *Alexandrova Marina* и колектив от 2016г сред пациенти с HIV и HCV е установено, че повишената експресия на CD39 Т-регулаторни лимфоцити има неблагоприятно прогностично значение и затруднява имунологичното възстановяване, както при моноинфектирани с един от двата вируса, така и при коинфектирани лица. Една от причините за по-неблагоприятната прогноза при коинфектираните пациенти е именно изчерпване на пула от наивни CD4 Т клетки, респективно намалената им секреция на регулаторни IL-2 и IL-10. Тези ефекти поставят пациентите с коинфекция с HCV, но и с други хепатотропни вируси, в повишен риск за ускорено чернодробно увреждане и невъзможност за справяне с опортюнистични инфекции. Според данни на *Stoycheva M.* от 2017г. от гр. Пловдив сред мониторираните 316 PLHIV, процентът на пациентите, завършили с летален изход (53/316), е най-висок сред ИУН, коинфектираните с HIV+HCV и при коинфекция HIV+*M. tuberculosis.*

В нашето изследване са включени 4 пациента с коинфекция HIV+HCV, двама от които със завършен ваксинален курс с комбинираната противохепатитна ваксина. И при двамата изходният имунен статус по отношение на вирусния товар за HIV е съответно неоткриваем VL, CD4 Т лимфоцити> 800, а получените резултати за anti–HbS са противоречиви. При единият нивото им е <3.10 mIU/ml, а при другият – се установява адекватна протекция - 122.8mIU/ml. Поради малкото включени пациенти в тази група и противоречивите им резултати, не могат да се направят статистически значими изводи. Необходими са допълнителни изследвания, както и изследване на клетъчен имунитет при отрицателните за anti-HBs.

Обратно на нашите очаквания за предполагаемия по-неефективен отговор при пациентите, живеещи с HIV, наблюдаваме високи резултати, в някои субпопулации и надвишаващи тези в контролната група. Имайки предвид, че в страната ни ежегодно се регистрират епидемични взривове от хепатит А, а MSM са високо рискова група за заразяване и с HAV, и HBV, е редно да се помисли за по-широкия обхват на ваксинационната кампания с включване на хепатит А ваксината в тази популация.

Освен споменатите и приложените ваксини, се обсъди приложението и на менингококови, моновалентни хепатит А ваксини, подлежащите на периодични реваксинации с ТД през 10 години според имунизационния календар на РБ, както и така актуалната и вече налична в България, 9 - валентна ваксина срещу HPV (*Gardasil 9 ® MSD*). Както е известно HPV се среща особено често в популацията на MSM лица, като освен причинител на доброкачествени кожни образувания (папиломи), представлява и рисков фактор за развитие на карциноми на фаринкс, ларинкс, анус, ректум и е основната причина за рак на маточната шийка при жените.

В литературата данните за ефективността на ваксините срещу HPV при PLHIV са оскъдни и противоречиви по отношение на наличните ваксини *Cervarix®GSK , Gardasil 4®MSD и Gardasil 9®MSD* [*Lacey CJ et al., 2019*]. Някои от проучванията съобщават субоптимален имунен отговор постваксинално при тези пациенти, други потвърждават високата ефективност след приложението на ваксина, в сравнение с контролна група, получила плацебо [*Zizza, A et al., 2021*]. Значима е нуждата от провеждането на такава ваксинация при лицата, живеещи с HIV, за предпочитане в по-млада възраст, но диапазонът за поставянето и вече е разширен до 45 годишна възраст. Предпазването от високорисковите онкогенни щамове 6, 11, 16, 18, 31, 33, 45, 52, 58 HPV е от особено значение при пациенти с предшестващи генитални гонококови инфекции. Единични лица от групата на PLHIV, дори поставиха по свое желание *Gardasil 9®MSD*, което представлява нов обект на научен интерес относно проследяването им.

Известно е, че получаването на ефективен антителен отговор след приложението на ваксини има обратнопропорционална зависимост с имуносупресията при PLHIV. Разбира се огромен напредък е постигнат с приложението на ART по отношение на супресията на вирусния товар на HIV и в настоящето проучване са включени само пациенти, получаващи редовно своята терапия в различни срокове. Но е съществено да се отбележи, че терапията изменя количествено и качествено цитокиновия профил на пациентите с HIV. Променениият им баланс поставя въпроси за търсене на съвременни подходи за справяне с хроничната имунна активация, митохондриалната дисфункция и преждевременното стареене на клетките. Установено е, че страничните ефекти на NRTIs се дължат именно на митохондриалната токсичност, чиято дисфункция води до натрупване на реактивни кислородни форми (ROS), респективно оксидативен стрес на клетката, драстични увреди на ДНК, а естествените репаративни механизми за поправка на митохондриалната ДНК са забавени при пациенти с HIV. И всичко това неизбежно

води до процеса на преждевременно стареене на клетките [*Schank M. et al., 2021*]. Правят се опити за справяне с ефектите и усложненията, предизвикани от антиретровирусната терапия, чрез прием на коригиращи терапии, таргетни цитокинови антиоксидантни терапии, суплементация с витамини. Както е известно от изключително значение за ефективната имунна защита е достатъчното ниво на витамин D в организма. В литературата се съобщават данни за обратнопропорционална зависимост на серумното му ниво и това на проинфламаторните цитокини – IL-6 например. В проведено проучване на *Yancheva, N.* и колектив сред 60 PLHIV в нашата страна, се сравнява нивото на 25-хидрокси витамин D с цитокиновия профил, като се установява ниско ниво на витамина при 81,6% от изследваните серумни проби, което кореспондира с повишени нива на IL-6 и по-ниски на IL-10, респективно потиснат Th1 имунен отговор. При напреднал дефицит се наблюдава както изчерпване, така и по-бавно възстановяване на пула от CD4 лимфоцити.

От направените проучвания на световната литература и изследвания в хода на настоящия труд може да се каже, че съществуват различни фактори, влияещи върху ефективността на имунния отговор при хора, живеещи с HIV след различни стимули. В нашето проучване установихме, че той е сигнификантен при лицата от таргетната група, при които няма данни за имуносупресия и не се различава съществено с този в общата популация. Поставиха се допълнителни въпроси и опорни точки за предстоящи изследвания в областта на ваксинопрофилактиката по отношение не само на ефективността след поставяне на ваксини, но и на продължителността на имунния отговор в зависимост от изходния имунен статус на пациентите.

6. **ИЗВОДИ**

1. За първи път в страната ни е проведено серологично проследяване на поствакcиналния хуморален имунитет след ваксиниране с противогрипни, противохепатитни и ваксини срещу SARS-CoV-2 на лица, живеещи с HIV. Извършен е статистически анализ на получените резултати и сравняването му с контролна група от неинфектирани с HIV лица.
2. Проведените от нас анкети и анализи показват, че само 25.3% от участвалите в проучването ни лица от таргетната група съобщават, че са били ваксинирани срещу сезонен грип в предходни години – срещу 56,7% сред контролите. Сред анкетираните лица се установява че 34.3% лица от контролната група никога не

са изследвани за хепатит. Сред PLHIV 7.4% от анкетираните не използват ЛПС при полови контакти /срещу 25,4% от контролите/, а 66% от PLHIV съобщават, че практикуват секс с лица от същия пол /срещу 9% от контролите/. Тези цифри заслужават последващ анализ.

3. При ваксинираните с противогрипни ваксини 124 лица (73 PLHIV и 51 контроли) са изследвани за антитела към грип А и грип В поотделно 110 серумни проби. Средните стойности на антителата срещу грип А/В при PLHIV са 105,9 RU/ml/139,6 RU/ml респективно, а при лицата от контролната група – 113,8 RU/ml и 155,9 RU/ml респ. Не се открива статистически значима разлика в средните стойности на антитела срещу грип А/В двете изследвани групи ($p>0,05$).
4. В хода на проведеното проучване 40 PLHIV са ваксинирани с *Vaxzevria*, а със завършен ваксинален курс са 36/40 пациента. Получените резултати за средните нива на вируснеутрализиращите антитела при PLHIV са 90.4% в сравнение с 85.5% при контролите ($p=0.029$).
5. В проучването с ваксини срещу HBV/HAV са включени общо 168 (102 от PLHIV и 66 контроли). Общо 116 лица, от които 75 PLHIV и 41 контроли са ваксинирани с моновалентна или комбинирана хепатит А+В ваксина в различни ваксинални режими. Завършена е ваксинацията при 62/75 (81%), а след това са проведени изследвания за anti-HBs при 72/75 лица. Защитни антитела срещу HBsAg се откриват при 57/72 (79%) от PLHIV. След ваксинацията срещу хепатит А, относителният дял на тези с положителен имунитет за anti-HAV при PLHIV е по-висок в сравнение с резултатите от контролната група (89.4% спрямо 71%).
6. Потвърдиха се ниската реактогенност и високата ефективност на използваните ваксини в популацията на пациентите, живеещи с HIV. Хуморалният поствакcинален отговор у PLHIV, не се различава от този за общата популация след приложението на противогрипни, ваксини срещу SARS-CoV-2, комбинирани хепатит А/В и моновалентни HBV ваксини. Безусловно е значението за PLHIV на приложените ваксини както за подобреното качество на живот на тези лица, така и за намаляването на здравословната и икономическата тежест на заболяванията.

7. ПРИНОСИ И ПРЕПОРЪКИ НА ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД

7.1 Приноси

С фундаментален характер

1. За първи път в страната ни е проведено серологично изследване за проследяване на поствакcиналния имунитет след първичната ваксинация срещу COVID-19, HAV, HBV и грип у PLHIV. При установените пациенти с необходимост от приложение на допълнителни дози от ваксините, такива са извършени и проследени серологично своевременно.
2. Направен е статистически и сравнителен анализ на получените резултати при пациентите, живеещи с HIV, и лица от контролна група, според техните хуморален имунен отговор, социални и демографски характеристики.
3. Извършено е широкомащабно проучване, включващо 166 пациенти от различни области на страната, относно тяхната информираност за наличните ваксини и методи за профилактика на вирусни инфекции.

С потвърдителен характер

1. Потвърдена е ролята на първичната профилактика чрез ваксинация за предпазване от коинфекции с грип, хепатит A, B, COVID - 19 при лица, живеещи с HIV.
2. Потвърдена е необходимостта от поствакcинално серологично изследване с оглед на дефиниране на ефективността на хуморалния имунен отговор поствакcинално.
3. Дефинира се нуждата от изготвяне на национален консенсус за ваксинопрофилактика при хората, живеещи с HIV.

С приложен характер

1. Извършени са профилактични противогрипни имунизации на 124 лица, от тях 73 живеещи с HIV и 51 здрави лица, предимно медицински работници.
2. Извършена е първична имунизация срещу COVID-19 при 40 лица, живеещи с HIV и 19 здрави лица.

3. Извършена е първична имунизации срещу HBV/HAV при лица, живеещи с HIV, както и на здрави лица с различни ваксини и ваксинални режими.
4. Направена е серологична оценка за продължителността на постимунизационния отговор при лицата, ваксинирани срещу HBV и обхванати от задължителната имунизационна програма.
5. Извършен е статистически анализ на получените резултати и сравняването му между различните групи и популации.
6. В хода на настоящия труд се осъществи здравно-просветна дейност при хора, живеещи с HIV относно възможните ваксинопредотвратимите инфекции. По време на изпълнението на поставените задачи се извърши просветна дейност и всички пациенти бяха запознати с евентуалните рискове от коинфекция с други вируси.

7.2 Препоръки

Въз основа на получените от нас резултати и изводи в хода на дисертационния труд, си позволяваме да направим следните препоръки към МЗ, респективно към Националния Координационен Съвет по HIV/СПИН:

1. Предлагаме въвеждането на серологично тестване на anti-HBs при всеки новодиагностициран пациент с HIV, с отрицателен резултат за HBV вируса. При неимунните да се предложи и проведе последващо ваксиниране, което би довело до значимо намаляване на пациентите с коинфекции HIV/HBV.

2. Считаме за разумно въвеждането на серологично скринингово тестване на anti-HBs антителата във възрастта 14-16 години при всички лица, имунизирани по национална програма, тъй като данните от нашето проучване и от направения литературен преглед, установяват в голям процент тяхното изчерпване постваксинално. Такова изследване би решило при кого защитата от HBV е недостатъчна и се налага бустер.
3. С оглед намаляване на тежкото протичане и на усложненията, предизвикани от сезонния грип и от COVID-19, считаме за важно тези ваксини да бъдат задължителни и безплатни за специфичната популация на PLHIV.
4. Поради ежегодните епидемични взривове от хепатит А и фактът, че лицата от групата на MSM са високо рискови за инфекция и с HAV, да се обсъди

провеждане на първична профилактика на неимунните новооткрити PLHIV и срещу хепатит А.

5. Поради липсата в Република България на национална стратегия и консенсус относно ваксинопрофилактиката в специфичната разгледана таргет група, считаме за важно пациентите, живеещи с HIV, да бъдат с приоритет при разработването на систематизиран подход за тяхната първична имунна профилактика чрез ваксини.

8. НАУЧНИ ПУБЛИКАЦИИ И СЪОБЩЕНИЯ, СВЪРЗАНИ С ДИСЕРТАЦИЯТА

8.1 Научни публикации

1. **Dragusheva E**, Popov G, Yancheva N, Koleva V, Naseva E, Dimitrov G, Argirova R, The humoral virus-neutralizing response resulting from "CHADOX1 S" in persons living with HIV in Bulgaria,World Journal of Biology Pharmacy and Health Sciences, 2023, 13(03), 012–018. DOI: 10.30574/wjbphs.2023.13.3.0107 https://doi.org/10.30574/wjbphs.2023.13.3.0107
2. Ngoc K, Trifonova I, Christova I, Baymakova M, Gladnishka T, Zasheva A, Pishmisheva-Peleva M, **Dragusheva E**, Ivanova V, Plochev K, Mihaylova-Garnizova R. Could viral load and serum antibodies be a predictor for COVID-19 severity? International Journal of Immunopathology and Pharmacology Manuscript ID IJI-23-0050, Submitted by the Author: 14-Feb-2023
3. Попов Г, **Е. Драгушева**, Н. Григоров. Динамика и предизвикателства при хоспитализирани пациенти с COVID-19 за 10 месечен период. // Военна медицина, 74, 2021, № 1.

8.2 Съобщения, изнесени на научни форуми

1. **Драгушева Е**, Попов Г, Колева В, Аргирова Р. Хуморален вируснеутрализиращ отговор у пациенти, живеещи с HIV, след приложението на ChAdOx1 S векторна ваксина срещу SARS-CoV–2 (предварителни резултати), 5-та национална научна конференция по HIV и коинфекции 26 – 27.11.2021, София хотел Балкан
2. **Драгушева Е**, Янчева Н, Попов Г, Колева В, Насева Е, Аргирова Р; Серологични данни за поствакcинален имунитет след прилагането на моновалентна HBV и комбинирана HAV/HBV ваксина у

пациенти, живеещи с HIV, 6-та национална научна конференция по HIV и коинфекции 02 – 03.12.2022, София хотел Астория

3. Йончева В, Исмаилова Ч, Тенев Т, **Драгушева Е**, Янчева Н, Голкочева-Маркова Е; Оценка наличието на протективни антитела срещу хепатит в вируса при новорегистрирани HIV-позитивни пациенти, 6-та национална научна конференция по HIV и коинфекции 02 – 03.12.2022, София хотел Астория
4. Христова И, Николова М, Попов Г, Трифонова И, Тодорова Я, **Драгушева Е**, Емилова Р, Пишмишева М; Вирусен товар, динамика на специфичните типове антитела и нива на основните цитокини в зависимост от тежестта на COVID-19. Първа научна конференция COVID-19 през 20-21. София, НДК, 09.09-12.09.2021

8.3 Участие в конференции и научно-практически обучения

1. Индивидуално обучение на тема: Съвременни диагностични и терапевтични възможности при HIV/AIDS. Катедра по Инфекциозни болести, паразитология и тропическа медицина МУ – Пловдив/УМБАЛ „Св.Георги“ ЕАД гр. Пловдив;
2. Заедно в профилактиката, диагностиката и лечението на инфекциозните болести 08.10.2020-10.10.2020г гр. София СБДИБ;
3. Четвърта национална научна конференция по HIV и коинфекции 29-30.11.2019г Бест Уестърн Експо Хотел гр. София;
4. Шеста експертна среща по ваксинопрофилактика Риу Правец Резорт 28-29/02/2020;
5. 11-ти национален виртуален конгрес по инфекциозни болести. „Заедно в профилактиката, диагностиката и лечението на инфекциозните болести“, Гранд Хотел Милениум, 08-10.10.2020 г, гр. София;
6. Национален HIV Advisory board Gilead/Angelini Pharma, онлайн презентация Грипни ваксини при хора, живеещи с HIV – 04.2021;
7. Завършен онлайн курс EACS Clinical Management HIV 20 June 2021;
8. Национална кръгла маса за стигмата HIV 29.06.2021, фондация Single Step;
9. Първа научна конференция COVID-19 9-12.09.2021;
10. Пета национална научна конференция по HIV и коинфекции 26 – 27.11.2021, София, хотел Балкан;
11. Участие в първа научна конференция по ваксинопредотвратими заболявания 11-13.12.2022г, София, хотел Астория;

12. Шеста национална научна конференция по HIV и коинфекции 02 – 03.12.2022, София, хотел Астория.

8.4 Спечелени проекти

Докторантът е одобрен за финансиране по програма за подпомагане на млади лекари на Български Лекарски Съюз, съгласно решение на „Комисията за изготвяне на критерии и методика за отпускане на финансова помощ на млади лекари-специализанти, редовни докторанти, млади лекари до 35-годишна възраст и студенти по медицина в V и VI курс“, с договор № 4/28.08.2019 г. за безвъзмездно финансиране на проект.

Изказвам своята най-сърдечна благодарност

- На научните ми ръководители доц. Нина Янчева-Петрова и проф. Георги Попов за съветите и помощта при цялостното разработване на дисертационния труд, както и за професионалното ми развитие като лекар в областта на Инфекциозните болести.
- На екипа от Клиника по Инфекциозни болести УМБАЛ „Св.Георги“ гр. Пловдив за съдействието и колегиалните отношения по време на работния процес.
- На колегите и приятели от центъра по сексуално здраве „CheckPoint“ гр.София за всеотдайната подкрепа в хода на работата.
- На д-р Веселина Колева и целия екип от Клинична лаборатория, Аджибадем Сити клиник УМБАЛ „Токуда“ за пълното съдействие и помощ при изработване на серумните проби.
- На гл.ас. Емилия Насева за помощта при статистическата обработка на изнесените данни.
- На цялото ми семейство и най-близки приятели за огромното търпение, безкрайна вяра и истинска обич.

Специална благодарност на проф. Радка Аргирова за нестихващия ентусиазъм и вяра, безценните уроци, всеотдайната помощ и подкрепа за експерименталната дейност и цялостно вдъхновение по пътя на науката!