

УДК: 616.98:578.828HIV:001.891(571.621)

МОЛЕКУЛЯРНО-ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ВАРИАНТОВ ВИЧ-1, ЦИРКУЛИРУЮЩИХ НА ТЕРРИТОРИИ ЕВРЕЙСКОЙ АВТОНОМНОЙ ОБЛАСТИ

¹В.О.Котова, ¹О.Е.Троценко, ¹Л.А.Балахонцева, ¹Е.А.Базыкина, ²О.А.Янович, ²Ю.В.Щиканов,
²М.Н.Павлова, ²Т.И.Шмакова

¹ФБУН «Хабаровский НИИ эпидемиологии и микробиологии» Роспотребнадзора, Россия

²ОГКУЗ «Центр профилактики и борьбы со СПИД», Биробиджан, ЕАО, Россия

© Коллектив авторов, 2018 г.

Цель исследования: проведение молекулярно-эпидемиологического анализа вариантов ВИЧ-1, циркулирующих на территории Еврейской автономной области. Материалы и методы. Обследовано 56 пациентов с диагнозом «ВИЧ-инфекция». Мутации резистентности выявляли методом секвенирования амплифицированных фрагментов гена *pol*, кодирующего протеазу и часть обратной транскриптазы ВИЧ-1, с использованием тест-системы «АмплиСенс® HIV-Resist-Seq». Филогенетический анализ выполняли с помощью программы MEGA v. 6.0. Результаты. Отмечено незначительное преобладание рекомбинантной формы ВИЧ-1 CRF63_02A1, которая была обнаружена у 25 пациентов (44,6%). Суб-субтип А6 выявлен у 23 человек (41,1%). В 6 случаях был обнаружен субтип В (10,7%), в 2 (3,6%) — субтип С. Первичные мутации лекарственной устойчивости, а значит, и необходимость замены терапии были выявлены у 9 пациентов, получающих антиретровирусную терапию. Показатель распространенности мутаций лекарственной устойчивости среди «наивных» пациентов составил 3,8%.

Ключевые слова: ВИЧ-инфекция, подтипы ВИЧ-1, мутации лекарственной устойчивости, филогенетический анализ.

MOLECULAR-EPIDEMIOLOGICAL CHARACTERISTICS OF HIV-1 VARIANTS CIRCULATING IN THE JEWISH AUTONOMOUS REGION TERRITORY

¹V.O.Kotova, ¹O.E.Trotsenko, ¹L.A.Balakhontseva, ¹E.A.Bazykina, ²O.A.Yanovich, ²Yu.V.Schikanov,
²M.N.Pavlova, ²T.I.Shmakova

¹Khabarovsk Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Russia

²Center on prevention and control of AIDS, Birobidzhan, Jewish autonomous district, Russia

Objective: to perform a molecular-epidemiological analysis of HIV-1 variants circulating in the Jewish autonomous region territory. Materials and methods. The research included 58 patients with HIV-infection. Amplified *pol*-gene fragments were used as a template to detect drug resistance mutations by Sanger sequencing (AmpliSens® HIV-Resist-Seq). *Pol*-gene is coding protease and a part of reverse transcriptase of HIV-1. Phylogenetic analysis was performed using MEGA version 6.0 program. Results: the research revealed an insignificant prevalence of HIV-1 CRF63_02A1 recombinant form. It was registered in 25 patients (44,6%). Sub-subtype A6 was identified in 23 HIV-positive people (41,1%). Subtype B was revealed in 6 cases (10,7%), subtype C — in two cases (3,6%). Primary drug resistance mutations were identified in 9 patients that were undergoing anti-retroviral treatment. This dictates the necessity to change the treatment regimen in the specified patients. The prevalence index of drug resistance mutations in naïve patients equaled to 3,8%.

Key words: HIV infection, HIV-1 subtypes, drug resistance mutations, phylogenetic.

DOI: <http://dx.doi.org/10.22328/2077-9828-2018-10-4-90-99>

Введение. Молекулярно-эпидемиологический мониторинг распространения различных генетических вариантов вируса иммунодефицита 1 типа (ВИЧ-1) на территории Российской Федерации проводится с самого начала эпидемии ВИЧ-

инфекции в стране и с каждым годом охватывает все больше новых регионов. Это позволяет значительно расширить современные представления о территориальных особенностях циркуляции подтипов ВИЧ-1, включая штаммы, резистентные

к антиретровирусным препаратам (АРВП). Полученные данные необходимы для прогнозирования эпидемического процесса ВИЧ-инфекции, как в масштабах отдельных регионов, так и в целом по РФ, а также для усовершенствования диагностических методов изучения вируса и разработки вакцинных препаратов.

Результаты проводимых исследований показали, что на протяжении многих лет на территории страны доминировал вирус суб-субтипа А6, который ранее обозначался как IDU-A (или AFSU) [1]. Данный геновариант в 1995 году попал на территорию России из Украины в среду потребителей инъекционных наркотиков (ПИН), а в начале 2000-х вышел за пределы указанной уязвимой группы риска и стал распространяться гетеросексуальным путем [2–4]. На большинстве территорий РФ суб-субтип А6 по-прежнему продолжает занимать доминирующее положение и играть определяющую роль в развитии эпидемии ВИЧ-инфекции [5–9].

Активизация международного туризма в последние годы, а также увеличение внутренних и внешних миграционных потоков оказали значительное влияние на появление новых генетических вариантов, включая рекомбинантные штаммы, которые ранее не встречались на отдельных административных территориях России, где в настоящее время циркулирует более 10 генетических вариантов ВИЧ-1 [5, 10].

Одним из важных компонентов в системе эпидемиологического надзора за ВИЧ-инфекцией являются исследования, направленные на изучение распространения мутаций лекарственной устойчивости (ЛУ) ВИЧ в циркулирующих генетических вариантах вируса, которые являются одной из основных причин неэффективности проводимой антиретровирусной терапии (АРВТ). Распространенность резистентности ВИЧ, как у пациентов, принимающих АРВТ (вторичная или приобретенная резистентность), так и лиц без опыта приема терапии (первичная, передаваемая резистентность), имеет отличия в разных регионах.

Уникальная степень генетической изменчивости ВИЧ способствует постоянному усложнению вирусной популяции, разнообразие которой в значительной степени варьирует в зависимости от географического положения территорий.

Исследования, проводимые в последние годы в крупных городах Дальневосточного федерального округа (ДФО), выявили значительное разнообразие в профиле циркулирующих генетических

вариантов ВИЧ-1. Так, в Хабаровском крае, наряду с вариантом ВИЧ-1 IDU-A, были обнаружены подтипы вируса В, С, рекомбинантные формы CRF02_AG и CRF63_02A1 [7]. На территории Приморского края, где отмечается наиболее высокие в ДФО уровни заболеваемости и пораженности ВИЧ-инфекцией, установлено явное преобладание восточноевропейского варианта вируса подтипа В [8]. В Сахалинской области обнаружены единичные случаи инфицирования рекомбинантной формой CRF11_srx и уникальной рекомбинантной формой URF02_AG [11].

Несомненно, большой интерес представляет проведение молекулярно-эпидемиологического анализа и на территориях с низкими уровнями пораженности и заболеваемости, где первые случаи ВИЧ-инфекции были зарегистрированы несколько позднее, чем в западных регионах страны. Одной из таких территорий является Еврейская автономная область (ЕАО), которая расположена в южной части Дальневосточного федерального округа и имеет выгодное географическое положение. На западе граничит с Амурской областью, на востоке — с Хабаровским краем, на юге ее граница по реке Амур совпадает с государственной границей России и Китая. По территории области проходит Транссибирская магистраль, которая обеспечивает наикратчайшие маршруты из Западной Европы и Ближнего Востока в страны Азиатско-Тихоокеанского региона.

Молекулярно-эпидемиологические исследования по изучению распространения геновариантов ВИЧ-1, в том числе резистентных к АРВП штаммов, на территории ЕАО никогда не проводились.

Цель: на основании изучения нуклеотидных последовательностей фрагментов гена *pol* провести анализ вариантов ВИЧ-1, циркулирующих на территории Еврейской автономной области, включая анализ мутаций резистентности к ингибиторам протеазы, нуклеозидным и нуклеозидным ингибиторам обратной транскриптазы среди ВИЧ-инфицированных пациентов ЕАО, получающих АРВТ, и среди ВИЧ-инфицированных лиц, не имеющих опыта лечения АРВП.

Материалы и методы. В работе использована коллекция образцов плазмы крови 56 ВИЧ-инфицированных пациентов, которые в 2015–2017 годах были направлены ОГКУЗ «Центр профилактики и борьбы со СПИД» ЕАО (Областной Центр СПИД ЕАО) в лабораторию Дальневосточного окружного центра по профилактике и борьбе со СПИД, распо-

ложенного на базе ФБУН «Хабаровский НИИ эпидемиологии и микробиологии» Роспотребнадзора (ДО Центр СПИД). Все пациенты были зарегистрированы в Областном Центре СПИД ЕАО с диагнозом «ВИЧ-инфекция» в период с 2001 по 2014 год. Были получены информированные согласия всех пациентов на участие в исследовании и одобрение Комитета по этике ФБУН «Хабаровский НИИ эпидемиологии и микробиологии» Роспотребнадзора (протокол № 1 от 18.03.2015). Сбор образцов крови был осуществлен на базе Областного Центра СПИД ЕАО в период 2015–2017 годов. Средний возраст пациентов составил $39,8 \pm 1,2$ года. Среди обследованных было 30 мужчин (53,6%) и 26 женщин (46,4%). На момент забора крови 30 пациентов находилось на АРВТ, 26 пациентам АРВП не назначались. Генотипирование ВИЧ в обеих группах было выполнено в рамках НИР «Молекулярно-генетический мониторинг в системе эпидемиологического надзора за ВИЧ-инфекцией в ДФО». Из анализируемой группы 36 человек (54,3%) инфицировалось в результате гетеросексуальных контактов, 20 человек (35,7%) — при употреблении инъекционных наркотиков.

Устойчивость ВИЧ исследовалась к антиретровирусным препаратам группы нуклеозидных/нуклеотидных ингибиторов обратной транскриптазы (НИОТ), нунуклеозидных ингибиторов обратной транскриптазы (ННИОТ) и ингибиторов протеазы (ИП). Мутации резистентности выявляли методом секвенирования амплифицированных фрагментов гена *pol*, кодирующего протеазу и часть обратной транскриптазы ВИЧ-1, с использованием тест-системы «АмплиСенс® HIV-Resist-Seq» (ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва, Россия), согласно инструкции производителя. Секвенирование очищенных фрагментов проводилось с помощью генетического анализатора Applied Biosystems 3500 Genetic Analyzer (Life Technologies, США). Для сборки нуклеотидных последовательностей было применено специальное программное обеспечение «ДЕОНА» (ООО «МедАйТи Групп», Россия). Для анализа полученных мутаций и определения степени резистентности была использована база данных Стэнфордского университета (<http://hivdb.stanford.edu>).

Для выравнивания полученных нуклеотидных последовательностей использовалась программа BioEdit v. 7.1.9.

Для идентификации близкородственных штаммов ВИЧ-1 полученные нуклеотидные последова-

тельности анализировались в программе BLAST (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST>). Оценку подтиповой принадлежности первоначально проводили с применением специализированных онлайн-программ REGA HIV-1 Subtyping Tool v. 3, представленных на сайте Стэнфордского университета (<http://hivdb.stanford.edu>), а также программы COMET HIV-1/2 [12]. Филогенетический анализ выполняли с помощью программы MEGA v. 6.0, путем построения филогенетических деревьев методом «ближайших соседей» (neighborjoining) [13]. Нуклеотидные дистанции рассчитывали по методу Кимуры. В целях оценки достоверности филогенетических связей использовали бутстрэп (bootstrap)-анализ для 500 независимых построений каждого филогенетического дерева. В качестве референс-штаммов для анализа были взяты варианты ВИЧ-1 из GenBank (<http://www.hiv.lanl.gov>).

Следует отметить, что при проведении филогенетического анализа не были исключены образцы с фактом наличия мутаций лекарственной устойчивости, так как их присутствие не привело к существенной деформации филогенетических деревьев.

Результаты и их обсуждение. Еврейская автономная область входит в состав Дальневосточного федерального округа и относится к территориям с низкими показателями заболеваемости и пораженности населения ВИЧ-инфекцией. Первый случай инфицирования здесь был зарегистрирован в 1999 году. В последние годы в области, как и в целом по РФ, наблюдается рост новых случаев ВИЧ-инфекции. На 01.01.2018 г. на территории ЕАО зарегистрировано 257 ВИЧ-инфицированных пациентов. В 2015 году показатель заболеваемости составил 14,4; 2016 г.— 18,3; 2017 г.— 17,7 (показатели по ДФО: 2015 г.— 36,1; 2016 г.— 37,5; 2017 г.— 36,2), а показатель пораженности в 2015 г.— 114,67; 2016 г.— 104,14; 2017 г.— 118,2 (показатели по ДФО: 2015 г.— 241; 2016 г.— 267,6; 2017 г.— 299,6 на 100 тысяч населения соответственно). Необходимо отметить, что распространенность ВИЧ-инфекции на территории области носит неоднородный характер. Наиболее неблагоприятной является территория Облученского района, где инфекция преобладает преимущественно в среде ПИН. Так, в 2017 году показатель пораженности ВИЧ-инфекцией населения района составил 380,53 на 100 тысяч населения, что в 3,2 раза выше, чем в среднем по ЕАО, и в 1,2 раза больше, чем в целом по ДФО.

В половой структуре ВИЧ-инфицированных в ЕАО незначительно преобладают лица мужского пола (54,7%). В возрастной структуре ВИЧ-инфицированных основную долю составляют лица 20–39 лет (2015 г. – 72%; 2016 г. – 75,9%; 2017 г. – 65,5%). В целом по области преобладает половой путь инфицирования, его удельный вес составляет — 61,1%.

На конец 2017 года на диспансерном учете состояло 85,6% от числа всех ВИЧ-инфицированных области. Доля пациентов, получающих АРВТ среди лиц, состоящих на диспансерном учете в период 2015–2017 годов, увеличилась и в 2017 году составила 44,2%, что соответствует целевому показателю (44%) Государственной стратегии противодействия распространению ВИЧ-инфекции в Российской Федерации на период до 2020 года и дальнейшую перспективу (http://disuria.ru/_ld/2/274_2203гP20102016.pdf).

заразившихся в результате гетеросексуальных контактов. Семь из 56 охваченных наблюдением человек ($12,5 \pm 4,4\%$) предположительно заразились за пределами Еврейской автономной области (Хабаровский и Приморский края, г. Санкт-Петербург).

Для подтверждения результатов генотипирования, а также выяснения происхождения и возможного родства вариантов ВИЧ-1, циркулирующих на территориях ЕАО, был проведен филогенетический анализ 56 нуклеотидных последовательностей фрагмента гена *pol*, кодирующего протеазу и обратную транскриптазу. Для подбора образцов последовательностей ВИЧ-1 в качестве групп сравнения использовали базу данных Лос-Аламосской национальной лаборатории (ЛАНЛ), США (<https://www.hiv.lanl.gov/>).

Филогенетический анализ 23 образцов, отнесенных по результатам генотипирования к суб-

Таблица 1

Распределение генетических вариантов ВИЧ-1 в Еврейской автономной области по предполагаемым путям (способам) заражения

Пути (способы) заражения	Генетические варианты ВИЧ-1				Всего
	CRF63–02A1	A6	B	C	
Употребление инъекционных наркотиков, %	16 (80,0±9,2)	4 (20,0±9,2)	0	0	20 (100,0)
Гетеросексуальные контакты, %	9 (25,0±7,2)	19 (52,8±8,3)	6 (16,7±6,2)	2 (5,5±3,4)	36 (100,0)

В период 2015–2017 годов в лаборатории ДО Центра СПИД проведено генотипирование 56 образцов, полученных от ВИЧ-инфицированных пациентов, проживающих на территории ЕАО. В ходе проведенного предварительного генотипирования ВИЧ-1 с применением онлайн-программ и последующего филогенетического анализа установлено, что среди обследованных пациентов на территории ЕАО в 2015–2017 годах в 25 случаях (44,6%) выявлена рекомбинантная форма ВИЧ-1 CRF63_02A1. Суб-субтип A6 выявлен у 23 человек (41,1%). В 6 случаях обнаружен субтип В (10,7%), в 2 (3,6%) — субтип С. Распределение генетических вариантов ВИЧ-1 в ЕАО по предполагаемым путям заражения приведено в таблице 1.

Как следует из полученных данных, в ЕАО рекомбинантная форма CRF63_02A1 чаще выявлялась в группе ПИН ($80,0 \pm 9,2\%$, $p < 0,001$), в то время как вариант вируса суб-субтип A6 преобладал среди лиц, заразившихся гетеросексуальным путем ($52,8 \pm 8,3\%$, $p < 0,01$). Варианты ВИЧ-1 субтипов В и С встречались только у пациентов,

субтипу A6, показал, что все нуклеотидные последовательности кластеризуются на одной ветви филогенетического древа с ранее полученными последовательностями той же области генома вариантов IDU-A, выделенных в разные годы на территориях России и Украины, и поддержаны бутстрэп-значением 96%, что указывает на их принадлежность к данному подтипу вируса (рис. 1). Таким образом, для популяции ВИЧ-1 субтипа IDU-A, циркулирующей на территории ЕАО, характерна высокая генетическая гомогенность и отсутствие выраженной кластеризации по каким-либо признакам.

Две нуклеотидные последовательности области гена *pol* ВИЧ-1 субтипа С (12103, 12203), полученные от лиц из Ленинского района ЕАО, инфицированных гетеросексуальным путем, объединились на одной ветви с нуклеотидными последовательностями той же области генома субтипа С ВИЧ-1, выделенными в 2012 году на территориях Хабаровского и Приморского краев. Обе ветви на филограмме, принадлежащие образцам 12103

и 12203, имели общий узел, что указывает на единый источник заражения.

Филогенетический анализ 6 образцов ВИЧ-1 субтипа В от пациентов, проживающих на терри-

с восточноевропейским вариантом вируса подтипа В, который уже встречался ранее на территориях Приморского края и Амурской области и был описан в 2012 году группой исследователей, а также

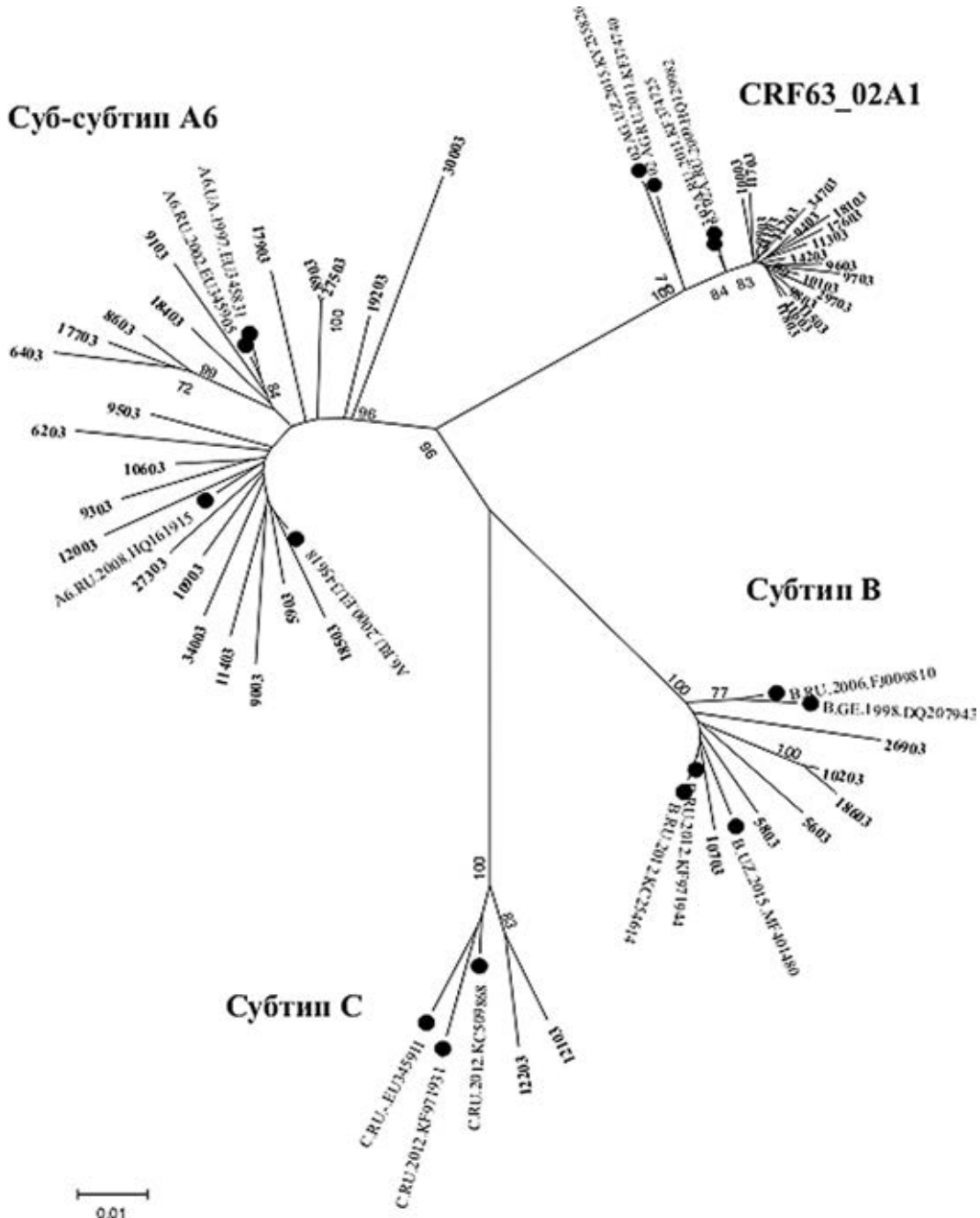


Рис. 1. Результат филогенетического анализа нуклеотидных последовательностей области гена *pol* генетических вариантов субтипа А ВИЧ-1, выделенных от пациентов, проживающих на территории ЕАО. Филогенетическое дерево построено с помощью метода ближайших соседей. Последовательности ВИЧ-1, изученные в данной работе, выделены жирным шрифтом. Кружочками отмечены референс-последовательности ВИЧ-1, которые соответствуют коду GenBank. Указаны значения бутстреп-индекса, превышающие 70

тории ЕАО и заразившихся в результате гетеросексуальных контактов в период с 2003 по 2015 год показал, что все они с высоким уровнем bootstrap-поддержки (100%) сформировали единый кластер

с образцами, выделенными 1998 году в Грузии (GenBank DQ207943), в 2006 году в Санкт-Петербурге (GenBank FJ009810) и в 2015 году в Узбекистане (GenBank MF401480) [7, 14, 15].

Циркуляция данного варианта вируса подтипа В отмечалась ранее среди ПИН в странах Восточной Европы, в том числе в Николаевской области Украины [16].

На территории ЕАО, кроме субтипов А, В и С, зарегистрировано появление циркулирующей рекомбинантной формы ВИЧ-1 — CRF63_02A1, которая была впервые описана в 2012 году на территории Сибирского федерального округа и представляет собой продукт рекомбинации субтипа А и CRF02_AG ВИЧ-1, циркулирующих на территориях России и Средней Азии [17]. В настоящее время данный генетический вариант имеет существенное значение в эпидемическом процессе ВИЧ-инфекции в Сибирском регионе.

Филогенетический анализ, проведенный для 25 образцов, отнесенных, по результатам предварительного генотипирования, к рекомбинантной форме CRF63_02A1, показал, что все пробы кластеризовались с рекомбинантными штаммами из других регионов РФ, в том числе с двумя нуклеотидными последовательностями вирусных штаммов из рабочей коллекции лаборатории ДО Центра СПИД (1102, 14102), полученными в 2015 и 2016 году из образцов плазмы крови ВИЧ-инфицированных пациентов Амурской области, граничащей с ЕАО, но при этом образовали единый кластер с уровнем bootstrap-поддержки 83% (рис. 2). Это может свидетельствовать о едином источнике заражения. Для подтверждения данного факта

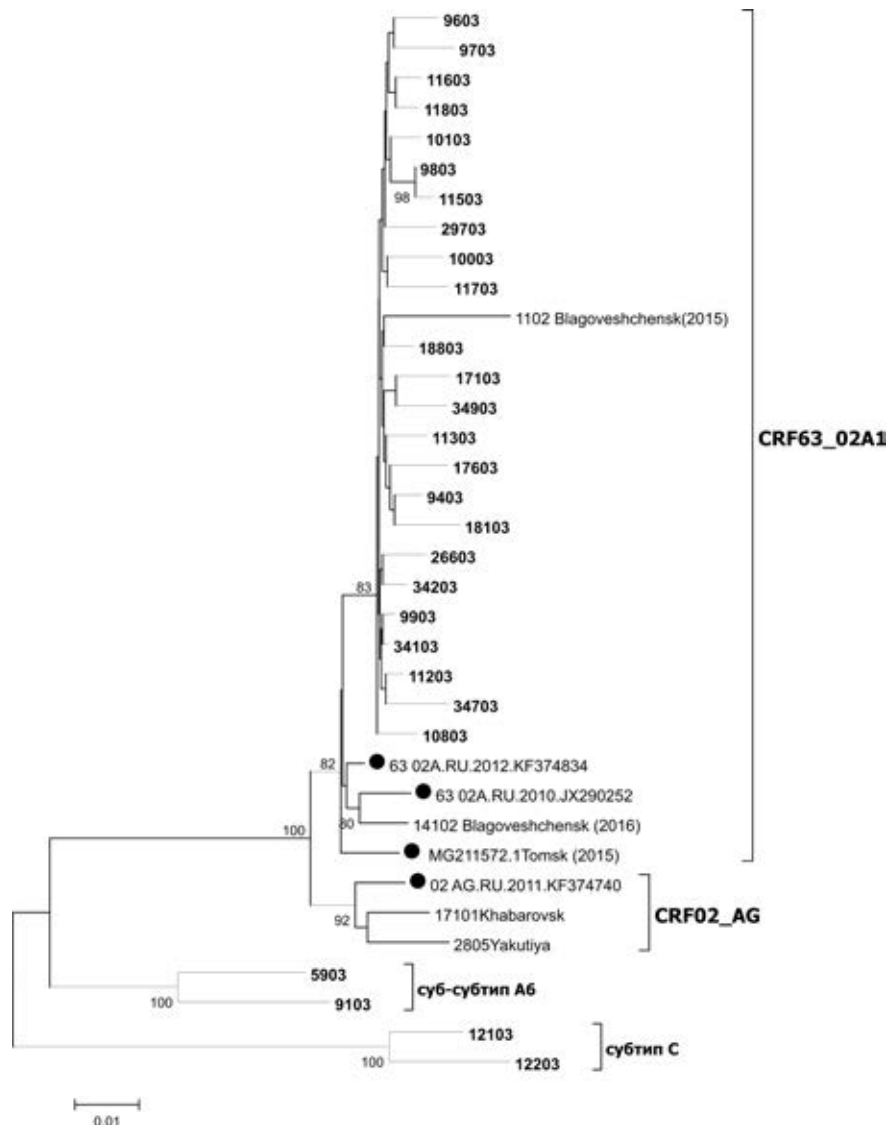


Рис. 2. Результат филогенетического анализа нуклеотидных последовательностей области гена *pol* рекомбинантной формы CRF63_02A1, ВИЧ-1, выделенных от пациентов, проживающих на территории ЕАО. Филогенетическое дерево построено с помощью метода ближайших соседей. Последовательности ВИЧ-1, изученные в данной работе, выделены жирным шрифтом. Кружочками отмечены референс-последовательности ВИЧ-1, которые соответствуют коду GenBank. Указаны значения бутстрэп-индекса, превышающие 70

необходимо проведение более глубокого дополнительного эпидемиологического расследования.

Анализ эпидемиологических данных показал, что 18 из 25 обследованных пациентов предположительно инфицировалось в период с 2007 по 2015 год на территории Облученского района ЕАО, наиболее близко расположенного к Амурской области, что свидетельствует о длительной циркуляции этого рекомбинантного варианта в ЕАО. Один пациент предположительно заразился на территории Хабаровского края. Единичные случаи инфицирования были зафиксированы и в других административных образованиях ЕАО: г. Биробиджан и Биробиджанский район, Смидовичский и Октябрьский рай-

часто используемая схема: зидовудин/лопинавир/эфаविленз (AZT/LPV/EFV), применялась у 10 пациентов (33,3%). Анализ приверженности пациентов к АРВТ не проводился.

Схемы терапии первого ряда получало 25 пациентов (83,3%); четыре человека получало терапию второго ряда, и один пациент — терапию третьего ряда.

Среди 30 обследованных пациентов, проходивших АРВТ, в 9 (30%) случаях была выявлена хотя бы одна первичная мутация резистентности к какому-либо классу препаратов. Спектр зарегистрированных основных мутаций лекарственной устойчивости ВИЧ к АРВП представлен в таблице 2.

Таблица 2

Частота встречаемости основных мутаций лекарственной устойчивости ВИЧ-1 к АРВП среди 30 пациентов, получающих АРВТ

Мутации к НИОТ	Абс.	%	Мутации к ННИОТ	Абс.	%
M184V	7	23,3	G190S	2	6,7
K65R	1	3,3	K101E	1	3,3
L74V	1	3,3	K103N	4	13,3
T215F	1	3,3	K101H	1	3,3
M41L	1	3,3	—	—	—

оны области. Следовательно, причиной столь широкого распространения рекомбинантной формы CRF63_02A1ВИЧ-1 на территории ЕАО может быть занос этого геноварианта из других регионов РФ и дальнейшее распространение его в среде ПИН и их половых партнеров.

Для получения полной картины циркуляции генетических вариантов ВИЧ-1 на территории ЕАО необходимо проведение дальнейших молекулярно-эпидемиологических исследований, особенно среди вновь выявляемых случаев ВИЧ-инфекции, с обязательным анализом нуклеотидных последовательностей других областей генома ВИЧ.

Анализ резистентности ВИЧ к АРВП у пациентов с ВИЧ-инфекцией, проживающих в ЕАО. На момент проведения исследования 30 пациентов находилось на АРВТ, 26 пациентам АРВП не назначались. Уровень вирусной нагрузки составлял от 1300 до 400 000 копий РНК/мл. В терапии пациентов, получающих АРВП, использовали следующие схемы лечения: абакавир/ламивудин (ABC/ЗТС), зидовудин/ламивудин (AZT/ЗТС), никавир/ламивудин, тенофовир/ламивудин (TDF/ЗТС). Третьим препаратом схемы назначались либо эфа-виренз (EFV), либо лопинавир/ритонавир (LPV/р), либо дарунавир/ритонавир (DRV/р). Наиболее

Наиболее распространенной мутацией ЛУ к препаратам класса НИОТ являлась замена M184V (23,3%), которая обеспечивает резистентность высокого уровня к препаратам группы НИОТ: эмтрицитабину (FTC) и ламивудину (ЗТС). Наличие даже единичной мутации M184V делает вирус практически нечувствительным к ЗТС, вместе с тем показано, что штаммы вируса с заменой M184V обладают «защитным действием», повышая чувствительность к тенофовиру (TDF), ставудину (d4T) и зидовудину (ZDV) и отдаляя появление лекарственной устойчивости к препаратам других классов, — ампренавиру (APV). В этой связи наличие мутации M184V не является основанием отмены ЗТС в схеме лечения [18, 19].

Среди мутаций, вызывающих высокий уровень ЛУ к препаратам группы ННИОТ, чаще встречалась мутация K103N, которая является самой распространенной мутацией к ННИОТ. Данная мутация была обнаружена только среди генетических вариантов CRF63_02A1 ВИЧ-1. Образцы, в которых была выявлена данная мутация, единого кластера не сформировали.

Мутации, определяющие резистентность ВИЧ к препаратам НИОТ, обнаружены у 2 человек, к препаратам группы ННИОТ — также у 2 паци-

ентов. У 5 пациентов выявлен штамм ВИЧ, резистентный сразу к двум классам препаратов — нуклеозидным и нуклеозидным ингибиторам обратной транскриптазы.

Мутации, обнаруженные в фрагменте гена *pol*, кодирующего протеазу, в основном были вторичными (вторичными) — A71V, K20I, L10IV, V11I. Отсутствие первичных мутаций, вызывающих ЛУ к ИП можно объяснить тем, что препараты данной группы были включены в схемы терапии позднее, чем НИОТ и ННИОТ, а также тем, что для АРВП из группы ИП, особенно для бустированных, характерен высокий генетический барьер, и для развития высокой степени устойчивости вируса необходимо появление нескольких мутаций [20].

Отсутствие первичных мутаций лекарственной устойчивости у 21 (70%) пациента, получающего АРВТ с детектируемым уровнем вирусной нагрузки, может свидетельствовать о низкой приверженности к лечению [21]. Данный факт требует проведения дальнейших исследований.

В результате проведенного анализа 26 нуклеотидных последовательностей фрагмента гена *pol*, кодирующего протеазу и часть обратной транскриптазы, полученных от ВИЧ-инфицированных пациентов ЕАО, не получавших АРВП, только в 1 (3,8±3,8%) случае была выявлена первичная мутация лекарственной устойчивости к ингибиторам протеазы — K103N. Все остальные выявленные мутации были отнесены либо к мутациям полиморфизма, либо к вторичным мутациям, то есть к мутациям, которые могут вносить свой вклад в формирование устойчивости, но в присутствии первичных мутаций и сами по себе резистентность не вызывают.

Среди мутаций полиморфизма в позициях, ассоциированных с лекарственной устойчивостью ВИЧ, как для пациентов, получающих АРВТ, так и не имеющих опыта лечения, можно отметить замену K20I в гене протеазы, которая характерна для вариантов вируса G и CRF02_AG. В подтипах В и С K20I представляет собой мутацию, которая снижает чувствительность к нелфинавиру (NFV) (<https://hivdb.stanford.edu/dr-summary/resistan->

se-notes/PI/). Данная мутация была обнаружена во всех 25 образцах, принадлежащих к рекомбинантной форме CRF63_02A1, что дополнительно может указывать на общий путь заражения для всех пациентов с этим геновариантом.

Компенсаторная мутация A62V, характерная для субтипа А, встречалась у 14 из 56 (25%) обследуемых пациентов. Данная мутация связана с развитием устойчивости только при наличии мутации Q151M и описана ранее как естественный полиморфизм генома ВИЧ-1 [22].

Полученные результаты используются в практической работе специалистами Областного Центра СПИД ЕАО с целью установления причины вирусологической и/или иммунологической неэффективности АРВТ и подбора схем терапии.

Заключение. Впервые проведенное молекулярно-эпидемиологическое исследование ВИЧ-инфекции на территории Еврейской автономной области, входящей в состав Дальневосточного федерального округа, показало, что среди обследованных в 2015–2017 годах ВИЧ-инфицированных пациентов рекомбинантная форма ВИЧ-1 — CRF63_02A1 была зарегистрирована у 25 из 56 человек (44,6%). На долю суб-субтипа А6, который является доминирующим на большинстве территории РФ, пришлось 41,1%. На территории ЕАО также зафиксированы субтипы В и С, которые были выявлены в 10,7 и 3,6% случаев соответственно.

Среди «наивных» пациентов ЕАО только в одном из 26 случаев выявлена первичная мутация лекарственной устойчивости к ингибиторам протеазы — K103N. У ВИЧ-инфицированных больных, получавших АРВТ в период 2015–2017 годов, первичные мутации резистентности к какому-либо классу препаратов установлены в 30% случаев.

Данное исследование вносит значительное дополнение в существующие представления о циркуляции геновариантов ВИЧ-1 на территориях РФ.

Полученные и проанализированные нуклеотидные последовательности депонированы в GenBank № KX147564-KX147565, MG969357-MG969379.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Foley B.T., Leitner T., Paraskevis D., Peeter M. Primate immunodeficiency virus classification and nomenclature. *Infect. Genet. Evol.*, 2016, pp. 150–158.
2. Бобков А.Ф., Казеннова Е.В., Селимова Л.М., Ханина Т.А., Ладная Н.Н., Бобкова М.Р., Кравченко А.В., Рябов Г.С., Суханова А.Л., Буравцова Е.В., Покровский В.В., Weber J.N. Молекулярно-вирусологические особенности эпидемии ВИЧ-инфекции в России и других странах СНГ // Вестник Российской академии медицинских наук. 2003. № 12. С. 83–85. [Bobkov A.F., Kazennova E.V., Selimova L.M.,

- Khanina T.A., Ladnaya N.N., Bobkova M.R., Kravchenko A.V., Ryabov G.S., Sukhanova A.L., Buravtsova E.V., Pokrobsky V.V., Weber J.N. The molecular-and-virological specificities of the HIV infection in Russia and other CIS countries. *Bulletin of the Russian Academy of Medical Sciences*, 2003, No. 12, pp. 83–85 (In Russ.).
3. Бобкова М.Р. Генетическое разнообразие вирусов иммунодефицита человека и антиретровирусная терапия // Терапевтический архив. 2016. № 11. С. 103–111. [Bobkova M.R. Genetic diversity of human immunodeficiency viruses and antiretroviral therapy. *Therapeutic Archive*, 2016, No.11, pp. 103–111 (In Russ.).]
 4. Суханова А.Л., Казеннова Е.В., Бобкова М.Р., Кравченко А.В., Селимова Л.М., Ханина Т.А., Бобков А.Ф., Покровский В.В. Варианты вируса иммунодефицита человека типа 1, обнаруживаемые в России среди инфицированных половым путем // Вопросы вирусологии. 2004. № 1. С. 4–7. [Sukhanova A. L., Kazennova E.V., Bobkova M.R., Kravchenko A.V., Selimova L.M., Khanina T.A., Bobkov A.F., Pokrovsky V.V. Variations of human immunodeficiency virus, type 1 (HIV-1), detected in Russia among sexually infected individuals. *Problems of Virology*, 2004, No. 1, pp. 4–7 (In Russ.).]
 5. Дементьева Н.Е., Сизова Н.В., Лисицина З.Н., Маклакова В.А., Крутицкая Л.И., Беляков Н.А. Анализ субтипов и фармакорезистентных вариантов ВИЧ, циркулирующих среди ВИЧ-инфицированных пациентов Санкт-Петербурга // ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии. 2011. Т. 3, № 4. С. 34–43. [Dement'eva N.Ye., Sizova N.V., Lisitsyna Z.N., Maklakova V.A., Krutitskaya L.I., Belyakov N.A. Analysis of HIV subtypes and dru-resistant variants circulating in Saint-Petersburg. *HIV Infection and Immunosuppressive Disorders*, 2011, Vol. 3, No. 4, pp. 34–43 (In Russ.).]
 6. Богачев В.В., Тотменин А.В., Барышев П.Б., Мещерякова Ю.В., Черноусова Н.Я., Гашникова Н.М. Молекулярно-генетическая характеристика вариантов ВИЧ-1 субтипов А и В, выделенных на территории Новосибирской области // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 2012. № 6. С. 45–52. [Bogachev V.V., Totmenin A.V., Baryshev P.B., Mescheryakova Yu.V., Chernousova N.Ya., Gashnikova N.M. Molecular-genetic characteristic of HIV-1 A and B subtypes variants isolated in Novosibirsk region. *Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*, 2012, No. 6, pp. 45–52 (In Russ.).]
 7. Казеннова Е.В., Нешумаев Д.А., Рукавицын Д.В., Лаповок И.А., Лага В.Ю., Ракчеева О.В., Васильева А.В., Туманов А.С., Воронцова Г.А., Кузнецова А.В., Лойфман Е.А., Старухина И.Н., Кустова О.И., Половица Н.В., Липская Н.А., Бобкова М.Р. Молекулярно-эпидемиологический анализ эпидемии ВИЧ-инфекции в Благовещенске и Хабаровске (Дальний Восток России) // Вопросы вирусологии. 2014. Т. 59, № 4. С. 31–36. [Kazennova E.V., Neshumaev D.A., Rukavitsyn D.V., Lapovok I.A., Laga V.Yu., Rakcheeva O.V., Vasilyeva A.V., Tumanov A.S., Vorontsova G.A., Kuznetsova A.V., Loyfman E.A., Staruchina I.N., Kustova O.I., Polovica N.V., Lipskaya N.A., Bobkova M.R. Molecular epidemiological analysis of the HIV infection in the Blagoveshchensk and Khabarovsk Area (Russian Far East). *Virology Issues*, 2014, Vol. 59, No. 4, pp. 31–36 (In Russ.).]
 8. Казеннова Е.В., Лага В.Ю., Громов К.Б., Санков М.Н., Попова Е.С., Игумнова Е.Г., Опарина Е.Н., Сорокина Т.А., Бобкова М.Р. Молекулярно-эпидемиологический анализ ВИЧ-инфекции в северных портовых городах России // Вопросы вирусологии. 2017. Т. 62, № 4. С. 154–161. [Kazennova E.V., Laga V.Yu., Gromov K.B., Sankov M.N., Popova E.S., Igumnova E.G., Oparina E.N., Sorokina T.A., Bobkova M.R. Molecular epidemiological analysis of HIV infection in Northern seaports of Russia. *Virology Issues*, 2017, Vol. 62, No. 4, pp. 154–161 (In Russ.).]
 9. Казеннова Е.В., Васильев А.В., Лаповок И.А., Гришечкин А.Е., Лага В.Ю., Саламов Г.Г., Туманов А.С., Парыгина О.А., Рузаева Л.А., Грезина Л.А., Серкина Т.П., Кауфман О.А., Оорджак Н.Д., Лукашов В.В., Бобкова М.Р. Генетические варианты ВИЧ-1 в азиатской части России (2005–2010) // Вопросы вирусологии. 2013. Т. 58, № 4. С. 28–35. [Kazennova E.V., Vasilyev A.V., Lapovok I.A., Grishechkin A.E., Laga V.Yu., Salamov G.G., Tumanov A.S., Parygina O.V., Ruzaeva L.A., Grezina L.A., Serkina T.P., Kaufman O.A., Oordjak N.D., Lukashov V.V., Bobkova M.R. HIV-1 Genetic Variants in the Asian Part of Russia: a Study (2005–2010). *Virology Issues*, 2013, Vol. 58, No. 4, pp. 28–35 (In Russ.).]
 10. Вазкез де Парга Е., Рахманова А.Г., Перез-Альварес Л., Виноградова А.Н., Дельгадо Е., Томсон М., Касадо Г., Сиерра М., Муньез М., Кармона Р., Вега И., Контерас Г., Медрано Л., Османов С., Нахера Р. Анализ мутаций, связанных с лекарственной резистентностью, у нелеченных пациентов, зараженных различными генетическими формами ВИЧ 1 типа, распространенными в странах бывшего Советского Союза // ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии. 2009. Т. 1, № 2. С. 50–56. [Vazquez de Parga E., Rakhmanova A.G., Perez-Alvarez L., Vinogradova A.N., Delgado E., Thomson M., Casado G., Sierra M., Munoz M., Carmona R., Vega I., Contreras G., Medrano L., Osmanov S., Nahera R. Analysis of HIV-1 drug resistance-associated mutations in untreated individuals Infected with different HIV-1 strains prevalent in Fsu countries. *HIV Infection and Immunosuppressive Disorders*, 2009, Vol. 1, No. 2, pp. 50–56. (In Russ.).]
 11. Туманов А.С., Казеннова Е.В., Громов К.Б., Ломакина Е.А., Зозуля Е.Ю., Берсенева П.Г., Бобкова М.Р. Молекулярно-эпидемиологический анализ ВИЧ-инфекции в Сахалинской области // ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии. 2017. Т. 9, № 3. С. 113–120. [Tumanov A.S., Kazennova E.V., Gromov K.B., Lomakina E.A., Zozylya E.Yu., Bersenev P.G., Bobkova M.R. The Molecular epidemiological analysis of HIV infection in Sakhalin region, Russia. *HIV Infection and Immunosuppressive Disorders*, 2017, Vol. 9, No. 3, pp. 113–120. (In Russ.).]
 12. Казеннова Е.В., Лаповок И.А., Васильев А.В., Лага В.Ю., Грезина Л.А., Волова Л.Ю. и др. Проблемы субтипирования ВИЧ-1 на основе анализа гена pol и способы их разрешения // ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии. 2010. Т. 3, № 2. С. 42–48. [Kazennova E.V., Lapovok I.A., Vasilyev A.V., Laga V.Yu., Grezina L.A., Volova L.Yu., Bobkova M.R. Problems of subtyping of HIV-1 on the base of Pol gene and ways of their permission. *HIV Infection and Immunosuppressive Disorders*, 2010, Vol. 3, No. 2, pp. 42–48. (In Russ.).]

13. Tamura K., Stecher G., Peterson D., Filipski A., Kumar S. MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 6.0. *Mol. Biol. Evol.*, 2013, Vol. 30, No. 12, pp. 2725–2729.
14. Kazennova E., Laga V., Lapovok I., Glushchenko N., Neshumayev D., Vasilyev A. et al. HIV-1 Genetic Variants in the Russian Far East. *AIDS Res. Hum. Retroviruses*, 2014, Vol. 30, No. 8, pp. 742–752.
15. Thomson M.M., Vinogradova A., Delgado E., Rakhmanova A., Yakovlev A., Cuevas M.T., Munoz M., Pinilla M., Vega Y., Perez-Alvarez L., Osmanov S. and Najera R. Molecular Epidemiology of HIV-1 in St Petersburg, Russia: Predominance of Subtype A, Former Soviet Union Variant, and Identification of Intrasubtype Subclusters. *J. Acquir. Immune Defic. Syndr.*, 2009, Vol. 51, No. 3, pp. 332–339.
16. Bobkova M. Current status of HIV-1 diversity and drug resistance monitoring in the former USSR. *AIDS Rev.*, 2013, Vol. 15, No. 4, pp. 204–212. PMID: 24192601.
17. Baryshev P.B., Bogachev V.V., Gashnikova N.M. Genetic characterization of an isolate of HIV type 1 AG recombinant form circulating in Siberia, Russia. *Arch. Virol.*, 2012, Vol. 157, No. 12, pp. 2335–2341.
18. Бобкова М.Р. Лекарственная устойчивость ВИЧ. М.: Человек, 2014. 288с. [Bobkova M.R. Drug resistance of HIV. Moscow: Chelovek, 2014, 288 p. (In Russ.)].
19. Казеннова Е.В., Лаповок И.А., Лебедев А.В., Лага В.Ю., Глущенко Н.В., Зверев С.Я., Нистратова Ю.И., Зайцева Н.Н., Парфенова О.В., Герасимов В.В., Шошокин В.А., Бобкова М.Р. Анализ резистентности ВИЧ в Приволжском федеральном округе Российской Федерации // ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии. 2015. Т. 7, № 3. С. 57–66. [Kazennova E.V., Lapovok I.A., Lebedev A.V., Laga V.Yu., Glushchenko N.V., Zverev S.Ya., Nistratova Yu.I., Zaytseva N.N., Parfenova O.V., Gerasimov V.V., Shoshokin V.A., Bobkova M.R. Analysis of HIV drugs resistance in Privolzhskiy federal district of the Russian Federation. *HIV Infection and Immunosuppressive Disorders*, 2015, Vol. 7, No. 3, pp. 57–66. (In Russ.)].
20. Youle M. Overview of boosted protease inhibition in treatment-experienced HIV-infected patients. *J. Antimicrob. Chemother.*, 2007, Vol. 60, No. 6, pp. 1195–1205.
21. Беляева В.В., Кравченко А.В. Приверженность высокоактивной противоретровирусной терапии при ВИЧ-инфекции // Шаги профессионала. 2010. № 6. С. 12–21. [Belyaeva V.V., Kravchenko A.V. Adherence to highly active antiretroviral therapy for HIV infection. *Shagi Professional*, 2010, No. 6, pp. 12–21 (In Russ.)].
22. Казеннова Е.В., Лаповок И.А., Лага В.Ю., Васильев А.В., Бобкова М.Р. Естественные полиморфизмы гена pol варианта ВИЧ-1 IDU-A // ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии. 2012. Т. 4, № 4. С. 44–51. [Kazennova E.V., Lapovok I.A., Laga V.Yu., Vasilyev A.V., Bobkova M.R. Natural polymorphisms of HIV-1 IDU-A variant pol gene. *HIV Infection and Immunosuppressive Disorders*, 2012, Vol. 4, No. 4, pp. 44–51 (In Russ.)].

Статья поступила 06.06.2018 г.

Контактная информация: Котова Валерия Олеговна, e-mail: dvaids@mail.ru

Коллектив авторов:

Котова Валерия Олеговна — зав. лабораторией эпидемиологии и профилактики вирусных гепатитов и СПИДа ФБУН «Хабаровский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии» Роспотребнадзора, 680610, Хабаровск, ул. Шевченко, 2, (4212) 46-18-54, e-mail: dvaids@mail.ru;

Троценко Ольга Евгеньевна — д.м.н., директор ФБУН «Хабаровский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии» Роспотребнадзора, 680610, Хабаровск, ул. Шевченко, 2, (4212) 32-52-28, e-mail: adm@hniiem.ru;

Балахонцева Людмила Анатольевна — руководитель Дальневосточного окружного центра по профилактике и борьбе со СПИД ФБУН «Хабаровский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии» Роспотребнадзора, 680610, Хабаровск, ул. Шевченко, 2, (4212) 46-18-54, e-mail: dvaids@mail.ru;

Базыкина Елена Анатольевна — м.н.с. лаборатории эпидемиологии и профилактики вирусных гепатитов и СПИДа ФБУН «Хабаровский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии» Роспотребнадзора, 680610, Хабаровск, ул. Шевченко, 2, (4212) 46-18-55, e-mail: dvaids@mail.ru;

Янович Ольга Александровна — главный врач ОГКУЗ «Центр профилактики и борьбы со СПИД», 679016, ЕАО, Биробиджан, ул. Пионерская, 9, (42622) 2-33-40, 2-31-14, e-mail: spid79eao@yandex.ru;

Щиканов Юрий Витальевич — зав. отделением профилактики, врач-эпидемиолог ОГКУЗ «Центр профилактики и борьбы со СПИД», 679016, ЕАО, Биробиджан, ул. Пионерская, 9, (42622) 6-80-22, 2-31-14, e-mail: spid79eao@yandex.ru;

Павлова Марина Николаевна — зав. лечебно-диагностическим отделом ОГКУЗ «Центр профилактики и борьбы со СПИД», 679016, ЕАО, Биробиджан, ул. Пионерская, 9, (42 622) 4-12-70, 2-31-14, e-mail: spid79eao@yandex.ru;

Шмакова Тамара Ивановна — зав. лабораторным отделением ОГКУЗ «Центр профилактики и борьбы со СПИД», 679016, ЕАО, Биробиджан, ул. Пионерская, 9, тел. (42622) 4-01-58, e-mail: spid79eao@yandex.ru.