

ОПЫТ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКОГО АНАЛИЗА ПРИ РАССЛЕДОВАНИИ СЛУЧАЕВ ВИЧ-ИНФИЦИРОВАНИЯ

^{1,2}Д. А. Нешумаев*, ¹М. А. Малышева, ¹С. Е. Скударнов, ²П. А. Шестерня, ²Е. А. Пожиленкова, ³В. Л. Стасенко

¹Красноярский краевой Центр профилактики и борьбы со СПИД, Красноярск, Россия

²Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В. Ф. Войно-Ясенецкого, Красноярск, Россия

³Омский государственный медицинский университет, Омск, Россия

Цель. Установление вероятного источника возбудителя инфекции посредством филогенетического анализа при расследовании случаев заражения лиц вирусом иммунодефицита человека (ВИЧ).

Материалы и методы. Секвенирование генома ВИЧ проводилось с использованием тест-системы ViroSeq (Celera). Филогенетический анализ проведен с помощью программы Mega 6. Построение филогенетического дерева было осуществлено по методу maximum likelihood. В качестве группы сравнения использовалось 40 образцов ВИЧ-инфицированных пациентов Красноярского края, а также 25 нуклеотидных последовательностей различных субтипов ВИЧ, взятых из международной базы данных GenBank. Достоверность полученного дерева оценивалась в бутстрэп-анализе, тесте вращения ветвей для тысячи случайных перепостроений.

Результаты и их обсуждение. В работе приведены результаты пяти эпидемиологических расследований случаев с вероятным искусственным путем передачи ВИЧ при оказании медицинской помощи на территории Красноярского края. В 2013 г. проведено исследование заражения трех лиц, находившихся в одном стационаре с ВИЧ-инфицированным пациентом. Показана тесная генетическая связь ВИЧ у вновь выявленных лиц, вероятный источник возбудителя инфекции обследовать не удалось по причине смерти. Второе расследование 2013 г. Показана связь вновь выявленного случая ВИЧ-инфекции с пациентом с ранее установленным ВИЧ-статусом. Оба лица одновременно находились на лечении в одной медицинской организации. Для определения направления трансмиссии вируса использован тест на давность заражения. В 2014 г. после получения медицинской помощи в четырех медицинских организациях у пациента была подтверждена ВИЧ-инфекция. Во всех стационарах на лечении находились лица с подтвержденным диагнозом ВИЧ-инфекции. Три пациента были обследованы. Подтверждено отсутствие филогенетического родства ВИЧ у данных пациентов, четвертый пациент умер, материал от него получить не удалось. В 2015 г. медицинская сестра получила травму при оказании помощи ВИЧ-инфицированному пациенту. Филогенетический анализ показал высокую степень генетического родства ВИЧ этих случаев заражения. В 2016 г. после автомобильной аварии два пациента госпитализированы в реанимационное отделение. В последующем у обоих была диагностирована ВИЧ-инфекция. В реанимации в это время находились на лечении четыре пациента с ВИЧ-статусом. Филогенетический анализ проведен у двух вновь выявленных ВИЧ-инфицированных лиц и одного предполагаемого источника ВИЧ. Показана связанность случаев вновь выявленных пациентов, предполагаемый источник ВИЧ установить не удалось.

Заключение. Использование молекулярно-генетических методов при проведении эпидемиологических расследований существенно повышает качество и точность расшифровки эпидемических цепочек ВИЧ-инфицирования.

Ключевые слова: ВИЧ-1, филогенетическое родство, эпидемиология, эпидемиологическое расследование

*Контакт: Нешумаев Дмитрий Александрович, neshumaeov@gmail.com

EXPERIENCE IN THE USE OF PHYLOGENETIC ANALYSIS IN THE INVESTIGATION OF CASES OF HIV-INFECTED PATIENTS

^{1,2}D. A. Neshumaeov*, ¹M. A. Malysheva, ¹S. E. Skudarinov, ²P. A. Shesternya, ²E. A. Pozhilenkova, ³V. L. Stasenko

¹Krasnoyarsk Regional Center of AIDS prevention, Krasnoyarsk, Russia

²Prof. V. F. Voyno-Yasensky Krasnoyarsk State Medical University, Krasnoyarsk, Russia

³Omsk State Medical University, Omsk, Russia

Objective. To establish a probable source of infection using phylogenetic analysis in the investigation of cases of HIV infection.

Materials and methods. HIV genome sequencing was carried out using the kit ViroSeq (Celera). The phylogenetic tree was constructed using the maximum likelihood method in the Mega 6 program. As a comparison group, 40 samples of HIV-infected patients from the Krasnoyarsk region were used, as well as 25 nucleotide sequences of various HIV subtypes taken from the international GenBank database. The reliability of the resulting tree was evaluated in bootstrap analysis, a branch rotation test for a thousand random constructions.

Results and discussion. The paper presents five cases of epidemiological investigations with a probable nosocomial and occupational mechanism of HIV infection transmission in the Krasnoyarsk region. In 2013, a study was conducted on the infection of three persons treated in the same hospital with an HIV-infected patient. A close genetic relationship of HIV was shown in newly identified individuals, the probable source could not be examined due to death. Second epidemiological investigation in 2013. The association of cases of infection between a newly diagnosed woman with HIV infection and a patient with a previously established HIV status is shown. Both persons were simultaneously in the same medical institution. To determine the direction of transmission of the virus, a test for the duration of infection was used. In 2014, after receiving medical care in four medical organizations, the patient was confirmed to be HIV positive. In all hospitals there were persons with a confirmed diagnosis of HIV infection. Three of them have been examined. The absence of a phylogenetic relationship was confirmed, the fourth died, the material could not be obtained from him. In 2015, a nurse was injured while caring for an HIV-positive patient. Phylogenetic analysis showed a high degree of genetic relationship between these cases of infection. In 2016, after a car accident, two patients were hospitalized in the intensive care unit. After some time, both were diagnosed with HIV infection. Four HIV-infected patients were in intensive care at the same time. Phylogenetic analysis was carried out in two newly identified individuals and one putative source. The association of infections in newly identified patients was shown, the alleged source could not be established.

Conclusion. The use of molecular genetic methods in epidemiological investigations significantly improves the quality and accuracy of deciphering epidemic chains of HIV infection.

Keywords: HIV-1, phylogenetic relationship, epidemiology, epidemiological investigation

*Contact: Dmitry A. Neshumayev, neshumayev@gmail.com

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования: Нешумаев Д.А., Малышева М.А., Скударнов С.Е., Шестерня П.А., Пожиленкова Е.А., Стасенко В.Л. Опыт использования филогенетического анализа при расследовании случаев ВИЧ-инфицирования // *ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии*. 2022. Т. 14, № 3. С. 43–50, doi: <http://dx.doi.org/10.22328/2077-9828-2022-14-3-43-50>.

Conflict of interest: the authors stated that there is no potential conflict of interest.

For citation: Neshumayev D.A., Malysheva M.A., Skudarinov S.E., Shesternya P.A., Pozhilenkova E.A., Stasenko V.L. Experience in the use of phylogenetic analysis in the investigation of cases of HIV-infected patients // *HIV Infection and Immunosuppressive Disorders*. 2022. Vol. 14, No. 3. P. 43–50, doi: <http://dx.doi.org/10.22328/2077-9828-2022-14-3-43-50>.

Введение. В практическом здравоохранении секвенирование генома ВИЧ в подавляющем большинстве случаев используется для определения резистентности к антиретровирусным препаратам [1, 2]. Для такого анализа достаточна расшифровка единственного изучаемого образца.

Наличие множества нуклеотидных последовательностей РНК, выявленных на определенной территории, позволяет выстроить филогенетические связи между субтипами ВИЧ, циркулирующими в данном регионе [3, 4]. Если добавить к такому исследованию временную шкалу, то анализ будет называться филодинамическим, а в случае наличия географических локаций изучаемых образцов можно провести филогеографический анализ [5, 6].

Возможность определения степени родства ВИЧ, выделенных у лиц из одного эпидемиологического очага, позволяет определить или исключить связанность случаев заражения между собой. В простейшем случае проводится генотипирование с целью определения субтипа ВИЧ. Наличие разных субтипов свидетельствует об отсутствии эпидемиологической связи между предполагаемыми участниками цепочки передачи ВИЧ. В России наиболее распространенным является подтип A1(A6) ВИЧ-1, который встречается более чем в 80% случаев [7, 8]. Именно поэтому результаты субтипирования вируса часто оказываются неинформативны для основной цели эпидемиологического расследования.

Таким образом, филогенетический анализ как способ установления генетического родства между вариантами ВИЧ остается наиболее доказательной альтернативой генотипированию. Способ сравнения вирусных геномов успешно применяется в западных странах при эпидемиологических исследованиях случаев криминальных заражений с 1990 г. [9, 10]. В России данная практика появилась существенно позже. В 2007 г. утвержден первый нормативный документ¹, позволивший использовать молекулярно-генетические методы в системе эпидемического контроля ВИЧ-инфекции. В настоящее время такие исследования периодически используются в педиатрической практике [11, 12], при расшифровке внутрибольничных очагов инфекции [13–15], судебных процессах [16, 17].

Цель. Установление вероятного источника возбудителя инфекции посредством филогенетического анализа при расследовании случаев заражения вирусом иммунодефицита человека.

Материалы и методы. Выяснение обстоятельств заражений ВИЧ с возможным внутрибольничным распространением возбудителя включало эпидемиологическое расследование с применением молекулярно-генетических и иммуноферментных исследований плазмы крови предполагаемых источников и реципиентов вируса. Все эпизоды зарегистрированы на территории Красноярского края в период с 2011 по 2016 годы.

Для определения направления передачи ВИЧ при изучении случая № 2 (см. результаты и обсуждения) использовалась тест-система ДС-ИФА-ВИЧ-АТ-срок (НПО «Диагностические системы») [18]. В соответствии с инструкцией к набору срок давности заболевания ранжировался на две категории: от момента вероятного заражения прошло менее 9 месяцев или пациент инфицирован более 9 месяцев.

Секвенирование генома ВИЧ проводилось с использованием тест-системы ViroSeq (Celera) по участку *pol*, охватывающему весь ген протеазы и 2/3 гена обратной транскриптазы. Детекция продуктов амплификации проводилась на генетическом анализаторе Genetic Analyzer 3130 (Applied Biosystems). Все электрофореграммы, полученные в результате генотипирования, проверяли визуально на участки последовательностей с неоднозначной автоматической интерпретацией нуклеотидов.

Филогенетический анализ проведен с помощью программы Mega 6. Построение филогенетического дерева было осуществлено по методу максимального правдоподобия (maximum likelihood). В качестве группы сравнения использовалось 40 образцов ВИЧ-инфицированных пациентов Красноярского края обоего пола, проанализированных в аналогичный период времени, а также 25 нуклеотидных последовательностей различных субтипов ВИЧ, взятых из международной базы данных GenBank. Достоверность полученного дерева оценивалась в бутстрэп-анализе, тесте вращения ветвей для тысячи случайных перепостроений.

Результаты и их обсуждение.

1. Эпидемиологическое расследование № 1, проведенное в 2013 г. Мужчина и две женщины 1939, 1938 и 1931 годов рождения были выявлены с ВИЧ-инфекцией в городском поселении Красноярского края. Ранее на диспансерном учете не состояли. В период вероятного инфицирования все вновь установленные лица находились в одном лечебном учреждении вместе с пациентом, находящимся на диспансерном учете в краевом Центре СПИД.

На момент проведения молекулярно-генетических исследований данный пациент умер, поэтому получить образец РНК ВИЧ не удалось (рисунок).

Проведенный филогенетический анализ совместен с эпидемиологическим расследованием позволяет утверждать, что случаи заражения ВИЧ имеют генетическое родство и возможно имеют один источник инфицирования.

2. Эпидемиологическое расследование № 2, проведенное в 2013 г. Во время длительной госпитализации в одном из стационаров города Красноярска у женщины 1943 года рождения была подтверждена ВИЧ-инфекция. Из возможных факторов риска эпидемиологами установлены многочисленные инъекции лекарственных препаратов через периферический внутривенный катетер. В отделении в это время находился мужчина с ранее установленным диагнозом «ВИЧ-инфекция». Данный пациент отличался крайне низкой приверженностью профилактическим и терапевтическим мерам, поэтому материал для филогенетического исследования удалось получить только спустя 14 месяцев от момента подтверждения диагноза у женщины.

¹ Методические рекомендации «Эпидемиологическое расследование случая ВИЧ-инфекции и проведение противоэпидемических мероприятий». Утверждены Минздравсоцразвития от 20.09.2007; № 6963-РХ.

с группой сравнения ближе, чем между собой. Эпидемиологи провели дополнительный сбор анамнеза и выяснили, что в данный период времени женщина находилась еще в четвертом лечебном учреждении. Как оказалось впоследствии в одном отделении с ВИЧ-инфицированным пациентом. На тот момент данный пациент умер, и материал для исследования получить не удалось.

В результате проведенного исследования подтверждено отсутствие связи между вновь выявленным случаем и вероятной передачей ВИЧ от трех пациентов с ранее установленным диагнозом. Возможно, что инфицирование произошло во время нахождения в четвертом лечебном учреждении, но эту гипотезу проверить не удалось.

4. Эпидемиологическое расследование № 4, проведенное в 2015 г. Медицинская сестра 1956 года рождения получила проникающую травму кожных покровов инъекционной иглой после внутривенного введения лекарственных растворов. Было известно, что пациент, которому оказывалась помощь, был инфицирован ВИЧ. Экстренная химиопрофилактика в регламентированный срок не была проведена по причине нахождения препаратов в закрытом сейфе в выходные дни в смежном отделении. Через несколько месяцев у медицинской сестры диагноз «ВИЧ-инфекция» был подтвержден в реакции иммунного блота.

Проведенный филогенетический анализ показал связанность изучаемых случаев ВИЧ-инфекции. Профессиональное заражение произошло в результате неправильного обращения с отходами класса Б.

были госпитализированы в реанимационное отделение. На момент нахождения в лечебном учреждении анализы на наличие ВИЧ-инфекции были отрицательны. После выписки из стационара при лабораторном обследовании подтверждено наличие ВИЧ-инфекции. Одновременно с этими пострадавшими в реанимации находились четыре ВИЧ-инфицированных пациента. Было выдвинуто предположение, что источником ВИЧ был один из этих четырех лиц, а инфицирование произошло при проведении инвазивных вмешательств (искусственный путь передачи возбудителя).

На момент проведения филогенетического анализа один из ВИЧ-инфицированных пациентов (один из предполагаемых источников) умер, поэтому материал от него получить не удалось. Двое других получали ВААРТ, вирусная нагрузка составляла 156 и 171 копий РНК ВИЧ/мл соответственно. Попытка секвенирования геномов РНК ВИЧ при таких концентрациях не увенчалась успехом.

В результате удалось обследовать двух вновь выявленных ВИЧ-положительных лиц и одного пациента, который мог являться источником ВИЧ. В результате было установлено, что два вновь выявленных случая ВИЧ-инфекции на филогенетическом дереве образуют общий кластер, не исключаяющий генетическое родство, а предполагаемый источник вируса не является участником данного эпидемического очага.

Несмотря на очевидную информативность филогенетического анализа при эпидемиологических расследованиях, имеет смысл также остановиться

Сложности, возникающие при использовании филогенетического анализа в здравоохранении

Таблица

Table

Challenges in using phylogenetic analysis in healthcare

Группа	Проблема
Подготовка кадров	1. Наличие специализированных циклов повышения квалификации. 2. Полномочия работников при выполнении этапов филогенетического исследования.
Проведение исследования	1. Внешний контроль качества исследований. 2. Закрытость российской базы данных устойчивости ВИЧ для набора группы сравнения
Результаты исследования	1. Отсутствие утвержденного бланка выдачи результатов филогенетического исследования. 2. Длительность и способ хранения первичных электронных данных

Также были сделаны организационные выводы о круглосуточной доступности препаратов, применяемых для экстренной химиопрофилактики ВИЧ-инфицирования.

5. Эпидемиологическое расследование № 5, проведенное в 2016 г. После автомобильной аварии два пациента, 1963 и 1972 годов рождения,

на проблемах, которые возникали при использовании лабораторной технологии в практической деятельности (таблица).

Программа первичной специализации врачей клинической лабораторной диагностики не предусматривает подготовку по проведению филогенетических исследований. Более того, отсутствуют

и утвержденные специализированные циклы повышения квалификации по данному разделу. Вследствие такой ситуации передача опыта осуществляется в большинстве случаев посредством личных контактов или на рабочих местах научно-исследовательских учреждений.

При судебных разбирательствах, связанных с возможным внутрибольничным механизмом заражения ВИЧ-инфекцией, неоднократно возникал вопрос о квалификации специалиста, проводившего филогенетические исследования. Очевидно, что при существующей системе подготовки отсутствуют официальные подтверждающие документы о прохождении обучения и, как следствие, возникают затруднения в оценке достоверности полученных данных у судебных органов.

Филогенетический анализ является заключительным этапом технологической цепочки, включающей выделение нуклеиновой кислоты, ПЦР, секвенирование генома. Целесообразно прописать и утвердить полномочия специалистов по лабораторной диагностике, участвующих на различных стадиях выполнения исследования. Требуется уточнить, на каких этапах могут принимать участие средние медицинские работники, биологи, а какие могут быть только врачами.

Множество расшифрованных фрагментов генома ВИЧ являются важнейшей входной информацией для филогенетического анализа. Такой подход позволяет сформировать группу сравнения для изучаемых сиквенсов и, как следствие, удастся точнее вычислить эволюционные дистанции.

К сожалению, провести сопоставление первичных данных, полученных в разных лабораториях, и выявить наличие систематической ошибки крайне затруднительно по причине отсутствия контрольных материалов в федеральной системе внешней оценки качества. Открытые базы данных в интернете позволяют формировать группы сравнения из сиквенсов высокого качества проверенных экспертной системой сайта. При этом необходимо отметить, что международные ресурсы, например GenBank¹, содержат достаточно мало последовательностей с территории РФ, а российская база данных устойчивости ВИЧ к антиретровирусным препаратам² закрыта для такого использования.

В нормативном документе от 2016 года декларирован порядок направления образцов для генотипирования/филогенетического анализа³. Утвержден бланк-направление на исследование, но отсутствует шаблон выдачи результата анализа. Как следствие значительная часть информации, собираемая на входном уровне, может быть проигнорирована при выдаче генотипического или филогенетического заключения. Представляется целесообразным привести в соответствие эти два взаимосвязанных документа.

Необходимо отметить, что полученная в результате секвенирования последовательность нуклеотидов, кодирующая участок РНК ВИЧ, представляет собой длинный набор букв, который удобно хранить, обрабатывать и исследовать в электронном виде. При этом порядок архивирования таких данных также не регламентирован. Сколько необходимо создать копий исходных файлов, в каких расширениях, в какие структурные папки переместить, как назвать, как долго хранить — вопросы, требующие уточнения и доработки.

В случае филогенетического доказательства высокой вероятности связанности случаев при расследовании внутрибольничных или умышленных заражений вирусом иммунодефицита человека наиболее очевидный исход эпидемиологического расследования — это судебное заседание, инициированное потерпевшей стороной. В таком случае отсутствие стандартизации (порядка) технологического процесса может быть основанием для подачи встречных исков к медицинским работникам и медицинским организациям. Представляется целесообразным закрыть эти несоответствия путем изменения или разработкой соответствующих нормативно-методическими документами.

Заключение. Использование молекулярно-генетических методов при проведении эпидемиологических исследований существенно повышает качество и точность расшифровки эпидемических цепочек ВИЧ-инфицирования.

Вместе с тем необходимо отметить отсутствие специализированных обучающих циклов по филогенетическому анализу, внешнего контроля качества проводимых исследований, стандартизации выполнения технологического процесса. Данные вопросы требуют уточнения и нормативного регулирования.

¹ <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>

² <https://www.hivresist.ru/>

³ Методические указания «Эпидемиологический надзор за ВИЧ-инфекцией». Утверждены руководителем Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека 26.02.2016; МУ 3.1.3342-16.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Лебедева Н.Н., Зверев С.Я., Кулагин В.В., Курина Н.В., Пронин А.Ю., Микова О.Е., Милованова И.И., Половица Н.И., Сандырева Т.П., Сизова Н.В., Скляр Л.Ф., Тertyshnaya Ю.Н., Белкина Н.С., Шемшюра А.Б., Бобкова М.Р. Индикаторы раннего предупреждения лекарственной устойчивости ВИЧ и их оценка в некоторых регионах России // *ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии*. 2018. Т. 10, № 4. С. 67–75. [Lebedeva N.N., Zverev S.Y., Kulagin V.V., Kurina N.V., Pronin A.Yu., Mikova O.E., Milovanova I.I., Polovitsa N.V., Sandyreva T.P., Sizova N.V., Sklyar L.F., Tertyshnaya Yu.N., Belkina N.S., Shemshura A.B., Bobkova M.R. HIV drug resistance early warning indicators and their assessment in some regions of Russia. *HIV Infection and Immunosuppressive Disorders*, 2018, Vol. 10, No. 4, pp. 67–75 (In Russ.)]. doi: 10.22328/2077-9828-2018-10-4-67-75.
2. Hamers R., Rinke de Wit T., Holmes Ch. HIV drug resistance in low-income and middle-income countries // *The Lancet HIV*. 2018. Vol. 5, No. 10. P. e588–e596. doi: 10.1016/S2352-3018(18)30173-5.
3. Казеннова Е.В., Антонова А.А., Ожмегова Е.Н., Демьяненко Э.Р., Минакова М.В., Белоусова О.В., Громов К.Б., Бобкова М.Р. Генетический анализ ВИЧ-1 в Алтайском крае: дальнейшее распространение варианта CRF63_02A1 по территории Западной Сибири // *ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии*. 2020. Т. 12, № 1. С. 47–57. [Kazennova E.V., Antonova A.A., Ozhmegova E.N., Demyanenko E.R., Minakova M.V., Belousova O.V., Gromov K.B., Bobkova M.R. Genetic analysis of HIV-1 in the Altai kray: the further spread of the CRF63_02A1 variant in Western Siberia. *HIV Infection and Immunosuppressive Disorders*, 2020, Vol. 12, No. 1, pp. 47–57 (In Russ.)]. doi: 10.22328/2077-9828-2020-12-1-47-57.
4. Лебедев А.В., Нешумаев Д.А., Казеннова Е.В., Лаповок И.А., Лага В.Ю., Туманов А.С., Глушенко Н.В., Плотникова Ю.К., Пономарева О.А., Ярыгина Е.И., Бобкова М.Р. Сравнительный анализ генетических вариантов ВИЧ-1, циркулировавших в Иркутской области в 1999 и 2012 гг. // *Вопросы вирусологии*. 2016. Т. 61, № 3. С. 112–118. [Lebedev A.V., Neshumayev D.A., Kazennova E.V., Lapovok I.A., Laga V.Yu., Tumanov A.S., Glushchenko N.V., Plotnikova Yu.K., Ponomareva O.A., Yarygina E.I., Bobkova M.R. Comparative analysis of genetic variants of the HIV-1 circulating in the Irkutsk region in 1999 and 2012. *Problems of Virology*, 2016, Vol. 61, No. 3, pp. 112–118 (In Russ.)]. doi: 10.18821/0507-4088-2016-61-3-112-118.
5. Neshumayev D., Lebedev A., Malysheva M., Boyko A., Skudarnov S., Ozhmegova E., Antonova A., Kazennova E., Bobkova M. Molecular surveillance of HIV-1 infection in Krasnoyarsk region, Russia: epidemiology, phylodynamics and phylogeography // *Current HIV Research*. 2019. Vol. 17. P. 114–125. DOI: 10.2174/1570162X17666190618155816.
6. Kostaki E.-G., Karamitros T., Bobkova M., Oikonomopoulou M., Magiorkinis G., Garcia F., Hatzakis A., Paraskevis D. Spatiotemporal characteristics of the HIV-1 CRF02_AG/CRF63_02A1 epidemic in Russia and Central Asia // *AIDS Research and Human Retroviruses*. 2018. Vol. 34, № 5. P. 415–420. DOI: 10.1089/aid.2017.0233.
7. Лаповок И.А., Лопатухин А.Э., Киреев Д.Е., Казеннова Е.В., Лебедев А.В., Бобкова М.Р., Коломеец А.Н., Турбина Г.И., Шипулин Г.А., Ладная Н.Н., Покровский В.В. Молекулярно-эпидемиологический анализ вариантов ВИЧ-1, циркулировавших в России в 1987–2015 гг. // *Терапевтический архив*. 2017. Т. 89, № 11. С. 44–49. [Lapovok I.A., Lopatukhin A.E., Kireev D.E., Kazennova E.V., Lebedev A.V., Bobkova M.R., Kolomeets A.N., Turbina G.I., Shipulin G.A., Ladnaya N.N., Pokrovsky V.V. Molecular epidemiological analysis of HIV-1 variants circulating in Russia in 1987–2015. *Therapeutic archive*, 2017, Vol. 89, No. 11, pp. 44–49 (In Russ.)]. doi: 10.17116/terarkh2017891144-49.
8. Madita S., Kartashev V., Mikkola V., Shemshura A., Saukhat S., Kolpakov D., Suladze A., Tverdokhlebova T., Hutt K., Heger E., Knops E., Bohm M., Cristanziano V., Kaiser R., Sönnernborg A., Zazzi M., Bobkova M., Sierra S. HIV-1 sub-subtype A6: settings for normalised identification and molecular epidemiology in the Southern Federal District, Russia // *Viruses*. 2020. Vol. 12, No. 4. P. 475. doi: 10.3390/v12040475.
9. Bernard E., Azad Y., Vandamme A., Weait M., Geretti A. HIV forensics: pitfalls and acceptable standards in the use of phylogenetic analysis as evidence in criminal investigations of HIV transmission // *HIV Medicine*. 2007. Vol. 8. P. 382–387. doi: 10.1111/j.1468-1293.2007.00486.x.
10. Ou C.Y., Ciesielski C.A., Myers G., Bandea C.I., Luo C.C., Korber B.T., Mullins J.I., Schochetman G., Berkelman R.L., Economou A.N. Molecular epidemiology of HIV transmission in a dental practice // *Science*. 1992. Vol. 256. P. 1165–1171. doi: 10.1126/science.256.5060.1165. PMID: 1589796.
11. Syed M., Khan A., Chaudhry A., Baig M., Memon N., Kumar S., Bhurt S., Qadri M., Vighio A., Baig Z., Rabold E., Ali H., Blanton C., Asghar R., Ikram A., Rahim M., Solangi M., Mahipala P., Fontaine R. An epidemic of pediatric HIV from reuse of infusion equipment in Pakistan // *JAIDS*. 2022. Vol. 89, No. 2. P. 121–128. DOI: 10.1097/QAI.0000000000002845.
12. Кругляк С.П., Котова В.О., Мирошниченко Е.И., Скалий О.А., Махно Е.С., Гришкевич Т.В., Скляр Л.Ф., Бениова С.Н., Григорян О.М., Балахонцева Л.А., Троценко О.Е. Использование метода филогенетического анализа при проведении эпидемиологического расследования случая заражения ВИЧ-инфекцией в педиатрической практике // *ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии*. 2021. Т. 13, № 1. С. 106–114. [Kruglyak S.P., Kotova V.O., Miroshnichenko E.I., Skaly O.A., Makhno E.S., Grishkevich T.V., Sklyar L.F., Beniova S.N., Grigorian O.M., Balakhontseva L.A., Trotsenko O.E. Use of the method of phylogenetic analysis in an epidemiological investigation in case of HIV infection in pediatric practice. *HIV Infection and Immunosuppressive Disorders*, 2021, Vol. 13, No. 1, pp. 106–114 (In Russ.)]. doi: 10.22328/2077-9828-2021-13-1-106-114.

13. Сандырева Т.П., Герасимова Н.А., Лопатухин А.Э., Киреев Д.Е., Куведва Д.А., Шипулин Г.А., Подымова А.С. Филогенетический анализ в эпидемиологических расследованиях случаев ВИЧ-инфекции // *Эпидемиология и инфекционные болезни*. 2014. № 1. С. 17–21. doi: 10.17816/EID40769 [Sandyreva T.P., Gerasimova N.A., Lopatukhin A.E., Kireev D.E., Kuevda D.A., Shipulin G.A., Podymova A.S. Phylogenetic analysis in epidemiological investigations of cases of HIV infection. *Epidemiology and Infectious Diseases*, 2014, Vol. 19, No. 1, pp. 17–21 (In Russ.)]. doi: 10.17816/EID40769.
14. Мурзакова А.В., Киреев Д.Е., Лопатухин А.Э., Шемшурова А.Б., Носик М.Н., Шипулин Г.А. Генетическая характеристика ВИЧ-1 субтипа G, вызвавшего внутрибольничную вспышку на юге России в 1988–1990 гг. // *Материалы научно-практической конференции «Молекулярная диагностика-2017»*. М., 2017. Т. 1. С. 455–456. [Murzakova A.V., Kireev D.E., Lopatukhin A.E., Shemshura A.B., Nosik M.N., Shipulin G.A. Genetic characteristics of HIV-1 subtype G, which caused a nosocomial outbreak in southern Russia in 1988–1990. *Materials of the scientific-practical conference «Molecular diagnostics-2017»*, Moscow, 2017, Vol. 1, pp. 455–456 (In Russ.)].
15. Лаповок И.А., Лопатухин А.Э., Киреев Д.Е. Молекулярно-генетические методы анализа в расследовании нозокомиальных вспышек ВИЧ-инфекции // *Инфекционные болезни*. 2020. Т. 18, № 1. С. 53–59. [Lapovok I.A., Lopatukhin A.E., Kireev D.E. Molecular-genetic methods of analysis for investigations of HIV-outbreaks. *Infectious diseases*, 2020, Vol. 18, No. 1, pp. 53–59 (In Russ.)]. doi: 10.20953/1729-9225-2020-1-53-59.
16. Зайцева Н.Н., Парфенова О.В., Пекшева О.Ю., Ефимов Е.И., Потемина Л.П., Абрамян Т.Л. Опыт использования филогенетического анализа в эпидемиологическом расследовании случая заражения ВИЧ-инфекцией // *Проблемы особо опасных инфекций*. 2016. № 1. С. 61–63. [Zaitseva N.N., Parfenova O.V., Peksheva O.Yu., Efimov E.I., Potemina L.P., Abramyan T.L. Experience in utilization of phylogenetic analysis for epidemiological investigation of HIV infection case. *Problems of Particularly Dangerous Infections*, 2016, No. 1, pp. 61–63 (In Russ.)]. doi: 10.21055/0370-1069-2016-1-61-63.
17. Abecasis A., Pingarillo M., Vandamme A.-M. Phylogenetic analysis as a forensic tool in HIV transmission investigations // *AIDS*. 2018. Vol. 32, No. 5. P. 543–554. doi: 10.1097/QAD.0000000000001728.
18. Загрядская Ю.Е., Нешумаев Д.А., Кокотюха Ю.А., Мейрманова Е.М., Ольховский И.А., Пузырев В.Ф., Бурков А.Н., Уланова Т.И. Оценка новой тест-системы ДС-ИФА-ВИЧ-АТ-СРОК для определения вероятных сроков заражения вирусом иммунодефицита человека 1-го типа (ВИЧ-1) // *Эпидемиология и инфекционные болезни*. 2015. Т. 20, № 3. С. 23–27. [Zagryadskaya Y.E., Neshumaev D.A., Kokotyukha Y.A., Meirmanova E.M., Olkhovsky I.A., Puzyrev V.F., Burkov A.N., Ulanova T.I. Assessment of a new «DS-EIA-HIV-AB-TERM» assay to determine the probable time of infection with human immunodeficiency virus-1 (HIV-1). *Epidemiology and Infectious Diseases*, 2015, Vol. 20, No. 3, pp. 23–27 (In Russ.)]. doi: 10.17816/EID40863.

Поступила в редакцию/Received by the Editor: 05.07.2022 г.

Авторство: Вклад в концепцию и план исследования — Д. А. Нешумаев, М. А. Малышева. Вклад в сбор данных — Д. А. Нешумаев, М. А. Малышева. Вклад в анализ данных и выводы — Д. А. Нешумаев, М. А. Малышева. Вклад в подготовку рукописи — Д. А. Нешумаев, М. А. Малышева, С. Е. Скударнов, П. А. Шестерня, Е. А. Пожиленкова, В. Л. Стасенко.

Благодарность: работа была выполнена с использованием ресурсной базы ЦКП «Молекулярные и клеточные технологии» ФГБОУ ВО КрасГМУ им. проф. В. Ф. Войно-Ясенецкого Минздрава России.

Acknowledgments: The work was done using the resource base Shared Core Facilities Molecular and Cell Technologies Prof. V. F. Voino-Yasenetsky Krasnoyarsk State Medical University.

Сведения об авторах:

Нешумаев Дмитрий Александрович — старший научный сотрудник Центра коллективного пользования «Молекулярные и клеточные технологии» федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В. Ф. Войно-Ясенецкого» Министерства здравоохранения Российской Федерации; 660022, г. Красноярск, ул. Партизана Железняка, д. 1; врач клинической лабораторной диагностики краевого государственного автономного учреждения здравоохранения «Красноярский краевой Центр профилактики и борьбы со СПИД»; 660049, г. Красноярск, ул. Карла Маркса, д. 45, стр. 1; e-mail: neshumaev@gmail.com; ORCID 0000-0002-3826-6088; SPIN 3416-6448;

Малышева Марина Александровна — врач-эпидемиолог краевого государственного автономного учреждения здравоохранения «Красноярский краевой Центр профилактики и борьбы со СПИД»; 660049, г. Красноярск, ул. Карла Маркса, д. 45, стр. 1; e-mail: malysheva@aims.krsn.ru;

Скударнов Сергей Егорович — главный врач краевого государственного автономного учреждения здравоохранения «Красноярский краевой Центр профилактики и борьбы со СПИД»; 660049, г. Красноярск, ул. Карла Маркса, д. 45, стр. 1; e-mail: gl_vrach@aims.krsn.ru;

Шестерня Павел Анатольевич — проректор по научной работе федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В. Ф. Войно-Ясенецкого» Министерства здравоохранения Российской Федерации; 660022, г. Красноярск, ул. Партизана Железняка, д. 1; e-mail: sci-prorektor@krsnmu.ru; ORCID 0000-0001-8652-1410; SPIN 6527-8762;

Пожиленкова Елена Анатольевна — руководитель Центра коллективного пользования «Молекулярные и клеточные технологии» федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В. Ф. Войно-Ясенецкого» Министерства здравоохранения Российской Федерации; 660022, г. Красноярск, ул. Партизана Железняка, д. 1; e-mail: elena.a.pozhilenkova@gmail.com; ORCID 0000-0001-7857-0490; SPIN 8555-7550;

Стасенко Владимир Леонидович — заведующий кафедрой эпидемиологии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Омский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации; 644099, г. Омск, ул. Ленина, д. 12; e-mail: vlstasenko@yandex.ru; ORCID 0000-0003-3164-8734; SPIN 5461-5155.