

УДК 615.07:616.9

ТЕСТЫ ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ ЛЕКАРСТВЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТИ ВИЧ: НАСТОЯЩЕЕ И БУДУЩЕЕ

С.А.Лободанов

Центральный НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва, Россия

HIV DRUG RESISTANCE TESTS: THE PRESENT AND THE FUTURE

S.A.Lobodanov

Central Research Institute for Epidemiology, Moscow, Russia

© С.А.Лободанов, 2015 г.

Антиретровирусная терапия позволяет увеличить продолжительность и качество жизни ВИЧ-инфицированных. Однако использование такой терапии приводит к формированию лекарственной устойчивости, которая выражается увеличением вирусной нагрузки. Для назначения или изменения схемы лечения необходимо знать профиль устойчивости ВИЧ у пациента. Тестирование на резистентность ВИЧ значительно облегчает и оптимизирует выбор режимов антиретровирусной терапии. В обзоре кратко описываются современные тест-системы для выявления лекарственной устойчивости ВИЧ, а также предлагается подход, в основе которого лежит технология секвенирования нового поколения.

Ключевые слова: ВИЧ, антиретровирусная терапия, лекарственная устойчивость, определение устойчивости, тест-системы, секвенирование нового поколения.

Antiretroviral therapy can increase lifetime and quality of life HIV-positive patient. But the use such a therapy leads to the development of HIV drug resistance, it is expressed increasing viral load. HIV drug resistance profile needs to know for prescription or change therapy regimen. Drug resistance testing significantly improves choice antiretroviral therapy regimen. The review briefly describes modern assays for determining HIV drug resistance and proposed approach next-generation-based HIV drug resistance genotyping technique.

Key words: HIV, antiretroviral therapy, drug resistance, drug resistance testing, assay kit, next-generation sequencing.

Введение. За 25 лет наблюдений, согласно данным Федерального центра СПИД, в РФ было зарегистрировано более 900 тыс. случаев заражения ВИЧ [1]. Реальное же число ВИЧ-инфицированных, по различным оценкам, может достигать 1,3 млн. человек, что составляет около 0,9% населения РФ [2]. ВИЧ-инфекция является хроническим неизлечимым заболеванием, однако современная антиретровирусная терапия (АРВТ) значительно увеличивает продолжительность и качество жизни пациентов, а также снижает риск передачи ВИЧ-инфекции от пациентов, получающих терапию [2–4]. В 2013 г. в РФ имели доступ к АРВТ около 157 тыс. человек [5]. Одной из частых причин неэффективности АРВТ и необходимости подбора новой схемы лечения — развитие лекарственной устойчивости (резистентности) вируса.

Быстрое развитие устойчивости обусловлено высокой скоростью репликации, а также значительной частотой ошибок, совершаемых обратной транскриптазой ВИЧ [6, 7]. Также формированию резистентности способствует низкая приверженность (комплаентность) лечению пациентов, получающих

АРВТ. Резистентность, развившуюся на фоне АРВТ, называют приобретенной устойчивостью. Все перечисленные выше факторы приводят к частому появлению мутаций и постоянному образованию новых вариантов вируса. Под давлением антиретровирусных препаратов (АРВП) происходит селекция устойчивых вариантов вируса, которые начинают активно реплицироваться, занимая доминирующее положение [8]. Первым индикатором активации ВИЧ на фоне развития лекарственной устойчивости является увеличение вирусной нагрузки [9]. При сохранении прежней схемы терапии ВИЧ-инфекция быстро прогрессирует. Для оптимальной модификации схемы лечения необходимо знать профиль устойчивости ВИЧ у пациента. Смена режима АРВТ может подбираться лечащим врачом эмпирически или на основании результатов лабораторных исследований на резистентность ВИЧ.

Доказано, что тестирование на резистентность ВИЧ значительно облегчает и оптимизирует выбор режимов АРВТ [10, 11]. Исследования, направленные на определение резистентности ВИЧ к лекарственным препаратам, разделяют по принципу дей-

ствия на две большие группы: основанные на фенотипировании (определении свойств) или основанные на генотипировании (анализ генома) вируса [12]. С помощью фенотипических тестов оценивают способность вируса расти в присутствии различных противовирусных препаратов *in vitro*. Суть исследования состоит в сравнении скорости репликации штаммов ВИЧ, выделенных от пациента, в клеточной культуре в присутствии разных концентраций АРВП со скоростью репликации штамма дикого типа (контрольного штамма) в присутствии тех же концентраций АРВП. Для каждого препарата определяют показатель IC_{50} (концентрацию препарата, которая подавляет репликацию вируса в клеточной культуре на 50%). Затем для определения чувствительности вируса вычисляют отношение IC_{50} для исследуемого штамма к IC_{50} для контрольного штамма (дикого типа) и сравнивают полученную величину (называемую коэффициентом резистентности или фактором резистентности) с пороговой величиной. Пороговая величина показывает, во сколько раз IC_{50} для исследуемого штамма может превышать IC_{50} для дикого штамма, чтобы вирус все еще считался чувствительным к препарату. Если коэффициент резистентности меньше пороговой величины, штамм считают чувствительным, если больше — устойчивым. Поэтому определение пороговых величин очень важно для интерпретации результатов [8]. Ввиду относительно большой трудоемкости и высокой себестоимости фенотипические методы в рутинной практике в РФ не используют, хотя создано несколько коммерчески доступных диагностических систем (например, семейство тестов «PhenoSense» (Monogram Bioscience, США), набор «Phenoscript» (Eurofins-Viralliance), ЕС) и «in-house» тест-систем («VIRALARTS HIV» (University Hospitals Case Medical Center), США) для фенотипического определения резистентности ВИЧ-1 [13–15].

Современные генотипические тесты для выявления лекарственной устойчивости ВИЧ. Самым распространенным методом исследования лекарственной устойчивости ВИЧ в клинической практике является генотипирование, то есть выявление в геноме ВИЧ мутаций, ответственных за формирование резистентности к тем или иным препаратам. На отечественном рынке представлены наборы для выявления лекарственной устойчивости ВИЧ, в основе которых лежит метод популяционного секвенирования (секвенирования по Сэнгеру). В мире такие тест-системы используются уже более десятилетия [16]. В настоящее время в РФ зарегистрированы и используются следующие диагностические системы трех производителей: «ViroSeq HIV-1 Genotyping System» (Abbott,

США), «TRUGENE HIV-1 Genotyping Kit» (Siemens Healthcare, Германия) и «АмплиСенс HIV-Resist-Seq» (Центральный НИИ эпидемиологии, РФ) [17–20]. Представленные наборы различаются по производительности: тест-системы компаний «Abbott» и «Siemens» позволяют определять устойчивость ВИЧ к препаратам трех классов (из шести существующих): нуклеозидным ингибиторам обратной транскриптазы (НИОТ), нуклеозидным ингибиторам обратной транскриптазы (ННИОТ), ингибиторам протеазы (ИП). Диагностическая система производства Центрального НИИ эпидемиологии позволяет дополнительно выявлять устойчивость к таким классам препаратов, как ингибиторы интегразы (ИИ) и антагонисты CCR5-рецепторов. Оценить устойчивость ВИЧ к последнему классу препаратов — ингибиторам слияния (фузии), с помощью перечисленных диагностических систем не представляется возможным. Все три диагностические системы находят применение, в основном, в клиничко-диагностических лабораториях государственных учреждений здравоохранения (центры по профилактике и борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями).

В мире достаточно активно велись разработки диагностических наборов для выявления устойчивости ВИЧ методом популяционного секвенирования, однако коммерчески доступных, помимо упомянутых трёх, существует совсем немного. Можно отметить тест-системы «HIV-1 Genotype» (Quest Diagnostics, США) и «VircoTYPE HIV-1» (Janssen Diagnostics, Бельгия) которые позволяют определять устойчивость ВИЧ-1 к НИОТ, ННИОТ и ИП, а также «GenoSure PRIme» (Monogram Bioscience, США) — выявляет мутации ведущие к устойчивости к НИОТ, ННИОТ, ИП и ИИ [21–24].

В целом, принципиальная схема определения мутаций устойчивости ВИЧ к АРВП с помощью генотипических тестов включает пять последовательных этапов:

- а) экстракция (выделение) РНК из клинического материала, который представлен, как правило, плазмой крови;
- б) проведение реакций обратной транскрипции (ОТ) с последующей амплификацией комплементарной ДНК (кДНК), для чего используют различные модификации полимеразной-цепной реакции (ПЦР);
- в) подготовка образцов к секвенированию;
- г) автоматическая детекция нуклеотидной последовательности с помощью прибора для секвенирования (секвенатора);
- д) биоинформационный анализ полученных данных и создание индивидуального формализованного отчета о профиле устойчивости ВИЧ к АРВТ

с использованием специального программного обеспечения.

Перспективы развития генотипических тестов для выявления лекарственной устойчивости ВИЧ. Генотипические тесты для определения устойчивости ВИЧ к АРВП, основанные на технологии популяционного секвенирования, не лишены определенных недостатков. Так, предел обнаружения вирусных субпопуляций ВИЧ в биологическом образце составляет около 20%, а это означает, что минорные варианты с лекарственной устойчивостью, «ускользнувшие» от анализа, в конечном счете, могут получить эволюционное преимущество под давлением АРВТ, что приводит в итоге к неэффективности лечения [25–29]. Другой недостаток заключается в том, что секвенированию подвергаются отдельные участки генома, вследствие чего проводится анализ на резистентность к отдельным классам АРВП. Кроме того, длительность и трудоемкость анализа, недостаточная информативность и дороговизна исследования также являются серьезными недостатками существующих тестов.

В этой связи, перспективным представляется создание диагностических систем для выявления устойчивости ВИЧ на основе метода секвенирования нового поколения (англ. next-generation sequencing, NGS), который все активнее применяются для молекулярно-генетических исследований. Термином NGS обозначают несколько принципиально отличных друг от друга и конкурирующих технологий, таких как пиросеквенирование, полупроводниковое секвенирование, секвенирование путем синтеза (англ. sequence-by-synthesis) и некоторых других. Отличительной чертой этих методов является экстремально большая производительность по сравнению с традиционным методом секвенирования по Сэнгеру. За рубежом уже зарегистрированы и используются в клинической практике тест-системы на основе NGS для диагностики редких и онкологических заболеваний [30–32]. Технические характеристики диагностических систем для выявления устойчивости ВИЧ на основе метода NGS будут значительно превышать характеристики уже имеющихся. Таким образом, становится возможным полногеномное секвенирование генома ВИЧ, которое вкупе с биоинформационным анализом с помощью специального программного обеспечения, позволит определять уровень устойчивости ко всем группам АРВП, а также выдавать с высокой точностью средне- и долгосрочные прогнозы использования той или иной схемы АРВТ для каждого ВИЧ-инфицированного пациента. Высокая производительность метода NGS позволит выявлять мутации в 1% и менее минорных вирусных субпопуляций ВИЧ

(эта особенность даст возможность заблаговременно выявлять мутации лекарственной устойчивости вируса еще до их фенотипического проявления), а применение технологии молекулярного баркодирования — одновременно анализировать образцы от нескольких пациентов за один запуск секвенатора [2]. Кроме мутаций лекарственной устойчивости данный анализ позволит определять тропизм ВИЧ. Появление на рынке настольных NGS-секвенаторов и удешевление стоимости каждого запуска позволяет рассчитывать на то, что данные диагностические системы найдут применение не только в научных лабораториях, но и будут использоваться для рутинной диагностики ВИЧ-инфицированных пациентов на устойчивость к АРВП.

Также созданию тест-систем для выявления устойчивости ВИЧ на основе метода NGS способствует накопление знаний о мутациях, ответственных за формирование резистентности. Для интерпретации результатов секвенирования используют списки известных мутаций резистентности или формализованные алгоритмы виртуального фенотипирования. Данные алгоритмы могут быть включены в программное обеспечение наборов реагентов для определения лекарственной устойчивости ВИЧ методом NGS. Однако, ввиду постоянного пополнения баз данных мутаций устойчивости ВИЧ и усовершенствования алгоритмов интерпретации, рекомендуется использовать открытые международные базы данных, размещенные в сети Интернет. В настоящее время функционируют несколько общепризнанных баз данных (БД), позволяющих проводить анализ нуклеотидных последовательностей на наличие мутаций лекарственной устойчивости ВИЧ к АРВП. Среди основных можно выделить БД лекарственной устойчивости ВИЧ Стэнфордского Университета («Stanford HIVdb»), БД «EuResist», БД «Geno2pheno», БД «Rega» и некоторые другие [33–36]. Все БД отличаются по количеству и полноте данных, а также по алгоритмам интерпретации, с помощью которых происходит обработка данных. Следует отметить, что Всемирная Организация Здравоохранения рекомендует использовать для интерпретации результатов определения лекарственной устойчивости ВИЧ наиболее репрезентативную БД — базу данных Стэнфордского университета [37]. Оптимальным вариантом использования баз данных для полноценной интерпретации результатов NGS-секвенирования с целью анализа лекарственной устойчивости ВИЧ представляется создание программного комплекса, интегрированного с «Stanford HIVdb» и использующего алгоритмы этой базы. «Зеркало» алгоритма интерпретации «Stanford HIVdb» на русском языке

реализовано во «Всероссийской базе данных устойчивости ВИЧ к АРВП».

Принципиальная схема определения мутаций устойчивости ВИЧ к АРВП с помощью метода NGS не отличается от таковой при проведении анализа генотипическими тестами и включает следующие стадии: экстракцию вирусной РНК, амплификацию фрагментов ВИЧ, подготовку образцов к NGS секвенированию (приготовление ДНК-библиотек), непосредственно секвенирование и биоинформационный анализ. Таким образом, замена генотипических тестов, основанных на популяционном секвенировании, на тесты, основанные на методе NGS, не потребует кардинальной перестройки материально-технической базы и позволит наиболее полно использовать уже имеющиеся оборудование.

На данный момент в мире нет зарегистрированных тест-систем для выявления устойчивости ВИЧ методом полногеномного NGS секвенирования, однако Gibson R.M. с соавторами по состоянию на 2014 год отмечали почти 200 публикаций, посвященных изучению ВИЧ методом NGS-секвенирования [21]. Интересна публикация 2012 года D.M.Dudley с соавторами, которая описывает прототип диагностической системы основанной на технологии NGS для выявления резистентности ВИЧ к НИОТ, ННИОТ и ИП [38]. В исследовании была использована технология пиросеквенирования. В данной статье детально описывается последовательность действий для выявления мутаций в гене полимеразы (*pro*), который амплифицируется и секвенируется полностью, а также выявление мутаций в гене обратной транскриптазы (*rev*), в котором амплификации и последующему секвенированию подвергаются первые 735 нуклеотидных остатков (н.о.). В целом, разработчики заявляют о четырёхкратном увеличении чувствительности по сравнению с секвенированием по Сэнгеру (порог выявления квазивидов ВИЧ-1 составил 5% по сравнению с 20% уровнем, который характерен для метода популяционного секвенирования). Также авторы предполагают, что стоимость анализа для одного пациента будет в 3–5 раз ниже по сравнению с традиционными методами. Наиболее близкий принцип и стратегия применения NGS-секвенирования для полногеномного анализа ВИЧ описывается в статье A.Gall с соавторами [39]. Однако цель, которую преследовала данная группа исследователей, не была связана с выявлением мутаций,

ответственных за формирование резистентности ВИЧ к АРВТ. Работа проводилась в рамках изучения филогенетического анализа различных групп и подтипов ВИЧ. Авторы, используя ПЦР с перекрывающимися праймерами (англ. overlapping PCR), получали четыре ампликона полностью включающих кодирующую область генома ВИЧ-1. В дальнейшем из ампликонов готовились ДНК-библиотеки, которые и подвергались пиросеквенированию.

Многие из исследований с использованием глубокого секвенирования пытались определить важность обнаружения низкого уровня лекарственно-устойчивых вариантов ВИЧ, то есть ниже 20% порога обнаружения, свойственного секвенированию по Сэнгеру, хотя клиническое значение обнаружения минорных вирусных квазивидов до сих пор обсуждается [40]. Было показано, что обнаружение мутаций лекарственной устойчивости с помощью NGS секвенирования (но не популяционного!) было ассоциировано с более высоким риском вирусологической неудачи у наивных пациентов [41–43]. Данные, которые могут быть получены с помощью метода NGS, должны пролить свет на роль минорных вирусных субпопуляций ВИЧ, составляющих 1–20% от общей популяции, в формировании резистентности к АРВП.

Заключение. Таким образом, можно прогнозировать, что в ближайшем будущем будут разработаны диагностические системы для выявления устойчивости ВИЧ на основе метода NGS, которые предстоит валидировать с уже использующимися в рутинной практике генотипическими тестами, основанными на секвенировании по Сэнгеру. В перспективе при более широкой доступности NGS-секвенаторов, которые обеспечивают экстремально низкую стоимость единицы получаемой информации, возможно, все исследования на выявление лекарственной устойчивости ВИЧ будут проводиться с помощью наборов на основе метода NGS. Кроме NGS-тестов, предназначенных для определения мутаций во всей кодирующей части генома ВИЧ, целесообразным представляется разработка тестов для анализа чувствительности к отдельным группам АРВП. В настоящее время в ЦНИИ Эпидемиологии ведется работа по созданию клинко-диагностической системы на основе секвенирования нового поколения для выявления устойчивости ВИЧ к антиретровирусной терапии в рамках госконтракта № 14411.2049999.19.015 с Минпромторгом РФ.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Справка: ВИЧ-инфекция в Российской Федерации на 31 декабря 2014 г.* — М.: Федеральный научно-методический центр по профилактике и борьбе со СПИДом. — 2015. — 4 с. — URL: <http://www.hivrussia.org/files/spravkaHIV2014.pdf>.

2. Надзор за распространением штаммов ВИЧ, резистентных к антиретровирусным препаратам. Методические рекомендации. МР 3.1.5.0075/1-13. — М.: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека. — 2013. — 36 с.
3. Hogg R.S., Heath K.V., Yip B., Craib K.J., O'Shaughnessy M.V., Schechter M.T., Montaner J.S. Improved survival among HIV-infected individuals following initiation of antiviral therapy // JAMA. — 1998. — Vol. 279 (6). — P. 450–454.
4. Palella F.J., Delaney K.M., Moorman A.C., Loveless M.O., Fuhrer J., Satten G.A., Aschman D.J., Holmberg S.D. Declining morbidity and mortality among patients with advanced human immunodeficiency virus infection // N. Engl. J. Med. — 1998. — Vol. 338 (13). — P. 853–860.
5. Ладная Н.Н., Куреев Д.Е., Лопатухин А.Э., Кувда Д.А., Кравченко А.В., Юрин О.Г., Покровский В.В. Основные компоненты системы надзора за циркуляцией штаммов ВИЧ, резистентных к антиретровирусным препаратам, по рекомендациям ВОЗ: Сборник трудов / под ред. академика В.И. Покровского // Молекулярная диагностика, 2014. — Т. 1. — М., 2014. — С. 74–75.
6. Coffin J.M. HIV population dynamics in vivo: implications for genetic variation, pathogenesis, and therapy // Science. — 1995. — Vol. 267 (5197). — P. 483–489.
7. Ho D.D., Neumann A.U., Perelson A.S., Chen W., Leonard J.M., Markowitz M. Rapid turnover of plasma virions and CD4 lymphocytes in HIV-1 infection // Nature. — 1995. — Vol. 373(6510). — P. 123–126.
8. Hoffmann C., Rockstroh J.K. HIV 2012/2013. — Hamburg: Medizin FokusVerlag, 2012. — 742 p.
9. ВИЧ-инфекция и СПИД: национальное руководство / Под ред. акад. РАМН В.В. Покровского. — М.: ГОЭТАР-Медиа, 2013. — 609 с.
10. Palella F.J., Armon C., Buchacz K., Cole S.R., Chmiel J.S., Novak R.M., Wood K., Moorman A.C., Brooks J.T. The association of HIV susceptibility testing with survival among HIV-infected patients receiving antiretroviral therapy: a cohort study // Ann. Intern. Med. — 2009. — Vol. 151 (2). — P. 73–84.
11. Johnson V.A., Calvez V., Gunthard H.F., Paredes R., Pillay D., Shafer R.W., Wensing A.M., Richman D.D. Update of the drug resistance mutations in HIV-1: March 2013 // Top Antivir. Med. — 2013. — Vol. 21 (1). — P. 6–14.
12. Hirsch M.S., Günthard H.F., Schapiro J.M., Brun-Vézinet F., Clotet B., Hammer S.M., Johnson V.A., Kuritzkes D.R., Mellors J.W., Pillay D., Yeni P.G., Jacobsen D.M., Richman D.D. Antiretroviral drug resistance testing in adult HIV-1 infection: 2008 recommendations of an International AIDS Society-USA panel // Top HIV Med. — 2008. — Vol. 16 (3). — P. 266–285.
13. Petropoulos C.J., Parkin N.T., Limoli K.L., Lie Y.S., Wrin T., Huang W., Tian H., Smith D., Winslow G.A., Capon D.J., Whitcomb J.M. A novel phenotypic drug susceptibility assay for human immunodeficiency virus type 1 // Antimicrob. Agents Chemother. — 2000. — Vol. 44 (4). — P. 920–928.
14. Race E., Dam E., Obry V., Paulous S., Clavel F. Analysis of HIV cross-resistance to protease inhibitors using a rapid single-cycle recombinant virus assay for patients failing on combination therapies // AIDS. — 1999. — Vol. 13 (15). — P. 2061–2068.
15. Weber J., Vazquez A.C., Winner D., Rose J.D., Wylie D., Rhea A.M., Henry K., Pappas J., Wright A., Mohamed N., Gibson R., Rodriguez B., Soriano V., King K., Arts E.J., Olivo P.D., Quiñones-Mateu M.E. Novel method for simultaneous quantification of phenotypic resistance to maturation, protease, reverse transcriptase, and integrase HIV inhibitors based on 3 Gag(p2/p7/p1/p6)/PR/RT/INT-recombinant viruses: a useful tool in the multitarget era of antiretroviral therapy // Antimicrob. Agents Chemother. — 2011. — Vol. 55 (8). — P. 3729–3742.
16. Pou C., Noguera-Julian M., Pérez-Álvarez S., García F., Delgado R., Dalmau D., Álvarez-Tejado M., Gonzalez D., Sayada C., Chueca N., Pulido F., Ibáñez L., Rodríguez C., Casadellà M., Santos J.R., Ruiz L., Clotet B., Paredes R. Improved prediction of salvage antiretroviral therapy outcomes using ultrasensitive HIV-1 drug resistance testing // Clin. Infect. Dis. — 2014. — Vol. 59 (4). — P. 578–588.
17. Cunningham S., Ank B., Lewis D., Lu W., Wantman M., Dileanis J.A., Jackson J.B., Palumbo P., Krogstad P., Eshleman S.H. Performance of the applied biosystems ViroSeq human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) genotyping system for sequence-based analysis of HIV-1 in pediatric plasma samples // J. Clin. Microbiol. — 2001. — Vol. 39 (4). — P. 1254–1257.
18. Grant R.M., Kuritzkes D.R., Johnson V.A., Mellors J.W., Sullivan J.L., Swanstrom R., DAquila R.T., Van Gorder M., Holodniy M., Lloyd R.M., Reid C., Morgan G.F., Winslow D.L. Accuracy of the TRUGENE HIV-1 genotyping kit // J. Clin. Microbiol. — 2003. — Vol. 41 (4). — P. 1586–1593.
19. Lopatukhin A., Kireev D., Kuvda D., Shipulin G. The first HIV tropism determination kit development based on genotypic methodic for routine in vitro diagnostics in Russia // Reviews in Antiviral Therapy & Infectious Diseases. — 2013. — Vol. 2. — P. 61–62.
20. Лопатухин А.Э., Куреев Д.Е., Поляков А.Н., Букин Е.К., Kaiser R., Luebke N., Кувда Д.А., Шипулин Г.А. Первый опыт применения стандартизированной генотипической методики определения тропизма ВИЧ // Клиническая лабораторная диагностика. — 2013. — № 6. — С. 46–48.
21. Gibson R.M., Schmotzer C.L., Quiñones-Mateu M.E. Next-generation sequencing to help monitor patients infected with HIV: ready for clinical use? // Curr. Infect. Dis. Rep. — 2014. — Vol. 16 (4). — P. 401.
22. HIV-1 Genotype [Электронный ресурс] URL: http://www.questdiagnostics.com/testcenter/testguide.action?dc=TS_HIV-1_Genotype&tabview=true (дата обращения 22.01.2015).
23. *vircoTYPE* HIV-1 [Электронный ресурс] URL: <http://www.janssendiagnostics.com/virconet2/ifu> (дата обращения 22.01.2015).
24. *GenoSure* PRIme [Электронный ресурс] URL: <http://www.monogrambio.com/hiv-tests/genotypic-assays/genosure-prime> (дата обращения 22.01.2015).
25. Halvas E.K., Aldrovandi G.M., Balfe P., Beck I.A., Boltz V.F., Coffin J.M., Frenkel L.M., Hazelwood J.D., Johnson V.A., Kearney M., Kovacs A., Kuritzkes D.R., Metzner K.J., Nissley D.V., Nowicki M., Palmer S., Ziermann R., Zhao R.Y., Jennings C.L., Bremer J., Brambilla D.,

- Mellors J.W. Blinded, multicenter comparison of methods to detect a drug-resistant mutant of human immunodeficiency virus type 1 at low frequency // *J. Clin. Microbiol.* — 2006. — Vol. 44 (7). — P. 2612–2614.
26. Paredes R., Lalama C.M., Ribaud H.J., Schackman B.R., Shikuma C., Giguel F., Meyer W.A., Johnson V.A., Fiscus S.A., D'Aquila R.T., Gulick R.M., Kuritzkes D.R. Pre-existing minority drug-resistant HIV-1 variants, adherence, and risk of antiretroviral treatment failure // *J. Infect. Dis.* — 2010. — Vol. 201 (5). — P. 662–671.
27. Johnson J.A., Li J.F., Wei X., Lipscomb J., Irlbeck D., Craig C., Smith A., Bennett D.E., Monsour M., Sandstrom P., Lanier E.R., Heneine W. Minority HIV-1 drug resistance mutations are present in antiretroviral treatment-naïve populations and associate with reduced treatment efficacy // *PLoS Med.* — 2008. — Vol. 5 (7). — P. 158.
28. Metzner K.J., Giulieri S.G., Knoepfel S.A., Rauch P., Burgisser P., Yerly S., Günthard H.F., Cavassini M. Minority quasispecies of drug resistant HIV-1 that lead to early therapy failure in treatment-naïve and -adherent patients // *Clin. Infect. Dis.* — 2009. — Vol. 48 (2). — P. 239–247.
29. Li J.Z., Kuritzkes D.R. Clinical implications of HIV-1 minority variants // *Clin. Infect. Dis.* — 2013. — V. 56 (11). — P. 1667–1674.
30. Dello Russo C., Di Giacomo G., Mesoraca A., D'Emidio L., Iaconianni P., Minutolo E., Lippa A., Giorlandino C. Next generation sequencing in the identification of a rare genetic disease from preconceptional couple screening to preimplantation genetic diagnosis // *J. Prenat. Med.* — 2014. — Vol. 8 (1–2). — P. 17–24.
31. Sie D., Snijders P.J., Meijer G.A., Doeleman M.W., van Moorsel M.I., van Essen H.F., Eijk P.P., Grünberg K., van Grieken N.C., Thunnissen E., Verheul H.M., Smit E.F., Ylstra B., Heideman D.A. Performance of amplicon-based next generation DNA sequencing for diagnostic gene mutation profiling in oncopathology // *Cell Oncol. (Dordr.)* — 2014. — Vol. 37 (5). — P. 353–361.
32. Trujillano D., Weiss M.E., Schneider J., Köster J., Papachristos E.B., Saviouk V., Zakharkina T., Nahavandi N., Kovacevic L., Rolfs A. Next-generation sequencing of the BRCA1 and BRCA2 genes for the genetic diagnostics of hereditary breast and/or ovarian cancer // *J. Mol. Diagn.* — 2015. — Vol. 17 (2). — P. 162–170.
33. Stanford University HIV Resistance Data Base. [Электронный ресурс]. URL: <http://hivdb.stanford.edu/> (дата обращения: 04.02.2015).
34. EuResist Integrated Data Base. [Электронный ресурс]. URL: <http://www.euresist.org/> (дата обращения: 04.02.2015).
35. Geno2pheno. [Электронный ресурс]. URL: <http://www.geno2pheno.org/> (дата обращения: 04.02.2015).
36. Rega D.B. [Электронный ресурс]. URL: <http://rega.kuleuven.be/cev/regadb/> (дата обращения: 04.02.2015).
37. Surveillance of HIV drug resistance in adults receiving ART. Concept note. — WHO, 2014. — 52 p.
38. Dudley D.M., Chin E.N., Bimber B.N., Sanabani S.S., Tarosso L.F., Costa P.R., Sauer M.M., Kallas E.G., O'Connor D.H. Low-cost ultra-wide genotyping using Roche/454 pyrosequencing for surveillance of HIV drug resistance // *PLoS One.* — 2012. — Vol. 7 (5). — e36494.
39. Gall A., Ferns B., Morris C., Watson S., Cotten M., Robinson M., Berry N., Pillay D., Kellam P. Universal amplification, next-generation sequencing, and assembly of HIV-1 genomes // *J. Clin. Microbiol.* — 2012. — Vol. 50 (12). — P. 3838–3844.
40. Gibson R.M., Meyer A.M., Winner D., Archer J., Feyertag F., Ruiz-Mateos E., Leal M., Robertson D.L., Schmotzer C.L., Quiñones-Mateu M.E. Sensitive deep-sequencing-based HIV-1 genotyping assay to simultaneously determine susceptibility to protease, reverse transcriptase, integrase, and maturation inhibitors, as well as HIV-1 coreceptor tropism // *Antimicrob. Agents Chemother.* — 2014. — Vol. 58 (4). — P. 2167–2185.
41. Simen B.B., Simons J.F., Hullsiek K.H., Novak R.M., Macarthur R.D., Baxter J.D., Huang C., Lubeski C., Trenchalk G.S., Braverman M.S., Desany B., Rothberg J.M., Egholm M., Kozal M.J. Low-abundance drug-resistant viral variants in chronically HIV-infected, antiretroviral treatment-naïve patients significantly impact treatment outcomes // *J. Infect. Dis.* — 2009. — Vol. 199 (5). — P. 693–701.
42. Gonzalez S., Tully D.C., Gondwe C., Wood C. Low-abundance resistant mutations in HIV-1 subtype C antiretroviral therapy-naïve individuals as revealed by pyrosequencing // *Curr. HIV Res.* — 2013. — Vol. 11 (1). — P. 43–49.
43. Бобкова М.П. Лекарственная устойчивость ВИЧ. — М.: Человек, 2014. — 288 с.

Статья поступила 17.04.2015 г.

Сведения об авторе:

Лободанов Сергей Александрович — к.б.н., научный сотрудник Центрального НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, 111123, Москва, ул. Новогиреевская, д. 3а, +7 (495) 974-96-46, доб. 2224, e-mail: lobodanov@cmd.su.