

## ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МЕТОДА ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКОГО АНАЛИЗА ПРИ ПРОВЕДЕНИИ ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОГО РАССЛЕДОВАНИЯ СЛУЧАЯ ЗАРАЖЕНИЯ ВИЧ-ИНФЕКЦИЕЙ В ПЕДИАТРИЧЕСКОЙ ПРАКТИКЕ

© <sup>1</sup>С. П. Кругляк, <sup>2</sup>В. О. Котова, <sup>1</sup>Е. И. Мирошниченко, <sup>1</sup>О. А. Скалий, <sup>1</sup>Е. С. Махно, <sup>1</sup>Т. В. Гришкевич, <sup>1,3</sup>Л. Ф. Скляр, <sup>1,3</sup>С. Н. Бениова, <sup>1,3</sup>О. М. Григорян\*, <sup>2</sup>Л. А. Балахонцева, <sup>2</sup>О. Е. Троценко

<sup>1</sup>Краевая клиническая больница № 2, Центр по профилактике и борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями, Владивосток, Россия

<sup>2</sup>Хабаровский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии, Хабаровск, Россия

<sup>3</sup>Дальневосточный федеральный университет, Школа биомедицины, Владивосток, Россия

*Целью исследования* было изучение основных путей и факторов риска инфицирования ребенка ВИЧ, установление вероятного источника его инфицирования, а также исключение возможности криминального или нозокомиального заражения.

*Материалы и методы.* На первом этапе выполнялось эпидемиологическое расследование. Затем проводился молекулярно-генетический анализ двух исследуемых образцов плазмы крови (ребенка и матери) и группы сравнения с использованием 18 нуклеотидных последовательностей вариантов ВИЧ-1, полученных от пациентов, проживающих в Приморском крае, и 8 охарактеризованных нуклеотидных последовательностей, дополнительно взятых из международной базы данных GenBank. Расчет дистанций и филогенетический анализ выполняли путем построения филогенетических деревьев методом Maximum Likelihood с использованием модели эволюции GTR.

*Результаты исследований.* Полученные данные свидетельствуют, что нуклеотидная последовательность, полученная от ребенка, наиболее сходна с нуклеотидной последовательностью, полученной от матери (потенциального источника), они достоверно группируются на филогенетическом дереве, образуя общий кластер, отличный от образцов группы сравнения. Это свидетельствует о вероятности наличия эпидемиологической связи между случаями ВИЧ-инфекции у матери и ее ребенка.

*Заключение.* По результатам данного исследования можно сделать вывод о заражении ребенка от ВИЧ-инфицированной матери, ориентировочно в возрасте старше 4 лет, когда у него был получен последний отрицательный результат тестирования на маркеры ВИЧ.

**Ключевые слова:** ВИЧ-инфекция, генотипирование, филогенетический анализ, педиатрия

\*Контакт: Григорян Ованнес Мнацаканович, [ov.grigorian@mail.ru](mailto:ov.grigorian@mail.ru)

## USE OF THE METHOD OF PHYLOGENETIC ANALYSIS IN AN EPIDEMIOLOGICAL INVESTIGATION IN CASE OF HIV INFECTION IN PEDIATRIC PRACTICE

© <sup>1</sup>Svetlana P. Kruglyak, <sup>2</sup>Valeria O. Kotova, <sup>1</sup>Elena I. Miroshnichenko, <sup>1</sup>Olga A. Skaly, <sup>1</sup>Ekaterina S. Makhno, <sup>1</sup>Tatyana V. Grishkevich, <sup>1,3</sup>Lydia F. Sklyar, <sup>1,3</sup>Svetlana N. Beniova, <sup>1,3</sup>Ovannes M. Grigorian\*, <sup>2</sup>Lyudmila A. Balakhontseva, <sup>2</sup>Olga E. Trotsenko

<sup>1</sup>Regional Clinical Hospital No 2 — Center for Prevention and Control of AIDS and Infectious Diseases, Vladivostok, Russia

<sup>2</sup>Khabarovsk Research Institute of Epidemiology and Microbiology of Rospotrebnadzor, Khabarovsk, Russia

<sup>3</sup>Far Eastern Federal University, School of Biomedicine, Vladivostok, Russia

*The aim of the study* is to study the main pathways and risk factors for HIV infection in a child, to establish a probable source of infection for a child, as well as to exclude the possibility of criminal or nosocomial infection.

*Materials and methods.* At the first stage, an epidemiological investigation was conducted. Next, a molecular genetic analysis of two blood plasma samples studied (child and mother) and a comparison group were used, in which 18 nucleotide sequences of HIV-1 variants were used, obtained from patients living in the Primorsky Region, and 8 characterized nucleotide sequences additionally taken from GenBank international database. Distance calculation and phylogenetic analysis were performed by constructing phylogenetic trees using the Maximum Likelihood method using the GTR evolution model.

*Research results.* The data obtained indicate that the nucleotide sequence from the child is most similar to the nucleotide sequence from the mother (potential source) and reliably grouped on the phylogenetic tree, forming a common cluster that is

different from the samples of the comparison group. This indicates the likelihood of an epidemiological link between HIV infections in the mother and her child.

**Conclusion.** According to the results of this study, we can conclude that the child is infected from an HIV-infected mother, approximately at the age of a child older than 4 years old, when he received the last negative test result for HIV markers.

**Key words:** HIV infection, genotyping, phylogenetic analysis, pediatrics

\*Contact: *Grigorian Ovannes Mnatsakanovich, ov.grigorian@mail.ru*

**Конфликт интересов:** авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

**Для цитирования:** 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. 106–14, <http://dx.doi.org/10.22328/2077-9828-2021-13-1-106-114>.

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

**For citation:** 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 immunosuppression*. 2021. Vol. 13, No. 1. P. 106–114, <http://dx.doi.org/10.22328/2077-9828-2021-13-1-106-114>.

**Введение.** Приморский край занимает одно из доминирующих мест по степени распространенности ВИЧ-инфекции в Дальневосточном федеральном округе. За весь период наблюдения (1989–2019 гг.) в Приморском крае выявлено 18 099 ВИЧ-позитивных лиц. Показатель пораженности населения края данной инфекцией на конец 2019 г. составлял 541,3 на 100 тыс. населения (общероссийский показатель 772,5 на 100 тыс. населения). Растет пораженность ВИЧ-инфекцией женского населения края — в 2019 г. она составляла 403,9 на 100 тыс. женского населения (2018 г. — 398,6 на 100 тыс., 2017 г. — 376,1 на 100 тыс.). Из общего числа лиц, живущих с ВИЧ, на территории Приморского края на конец 2019 г., женщины составили 38,9%.

В настоящее время ВИЧ-инфекция у детей является актуальной проблемой, и в абсолютном большинстве случаев инфицирование напрямую привязано с ВИЧ-статусом родителей, их своевременным и полным обследованием и лечением. Согласно данным литературы, отмечается рост числа детей, инфицированных ВИЧ через грудное молоко, что выявляется, как правило, в возрасте старше 2 лет [1, 2].

Несмотря на предпринятые усилия по существенному снижению уровня передачи ВИЧ от матери ребенку путем вовлечения женщин в программу перинатальной профилактики ВИЧ-инфекции во

время беременности и родов, внедрения в работу медицинских организаций методических рекомендаций МЗ РФ «Раннее выявление ВИЧ-инфекции у детей» от 2018 г.<sup>1</sup>, только в 2019 г. в Приморском крае от ВИЧ-инфицированных матерей родилось 119 младенцев, в 5 случаях подтвержден диагноз ВИЧ-инфекции преимущественно в первые 6 месяцев жизни.

Однако имеют место случаи выявления у детей более поздних стадий ВИЧ-инфекции, сложные с точки зрения установления источника инфекции, в том числе детей, ранее снятых с диспансерного учета по перинатальному контакту с ВИЧ-инфицированной матерью [3]. Эпидемиологическое расследование таких случаев, как основной инструмент для получения объективных данных об источнике инфицирования, для проведения противоэпидемических и профилактических мероприятий с целью выявления факторов риска, определения предполагаемых связей и разрыва путей передачи инфекции, может быть существенно затруднено. Это определяет актуальность и необходимость использования в практике современных молекулярно-генетических методов исследования, а именно генотипирования ВИЧ и филогенетического анализа. Исследование филогенетического родства нуклеотидных последовательностей вируса иммунодефицита человека, выделенных от инфицированных лиц из эпидемического очага, позволяет с достаточно высокой степенью

<sup>1</sup> Раннее выявление ВИЧ-инфекции у детей. Методические рекомендации МЗ РФ. М., 2018. 11 с. [Early detection of HIV infection in children. Guidelines of the Ministry of health of the Russian Federation. Moscow, 2018 (In Russ.)]. 11 p. [http://aids72.ru/med/metod-letter2018\\_15-3-10-2-1810-ranee.pdf](http://aids72.ru/med/metod-letter2018_15-3-10-2-1810-ranee.pdf).

достоверности определить или опровергнуть взаимосвязь между предполагаемым источником инфекции и реципиентом [4].

В настоящей работе представлены результаты эпидемиологического и филогенетического анализа при расследовании случая ВИЧ-инфекции у ребенка 8 лет, проживающего в Приморском крае.

**Цель:** изучение основных путей и факторов риска инфицирования ВИЧ ребенка, установление вероятного источника его инфицирования, а также исключение возможности криминального или нозокомиального заражения.

**Материалы и методы.** Эпидемиологическое расследование проводилось специалистами ГБУЗ «Краевая клиническая больница № 2», Центр по профилактике и борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями г. Владивостока в соответствии с методическими указаниями «Эпидемиологический надзор за ВИЧ-инфекцией»<sup>1</sup>. Изучали основные пути и факторы риска инфицирования ВИЧ ребенка, обследовали на ВИЧ контактных лиц в лечебных учреждениях и семейном очаге, определяли границы очага ВИЧ-инфекции. Все полученные данные отражали в карте эпидемиологического расследования. По результатам расследования проводились противоэпидемические и профилактические мероприятия с целью устранения риска и разрыва путей передачи инфекции.

Филогенетический анализ и определение субтипа ВИЧ выполнялись специалистами лаборатории «Хабаровский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии» Роспотребнадзора. Проведен молекулярно-генетический анализ двух исследуемых образцов плазмы крови (образцы № 1540 — реципиент и № 1541 — лицо, потенциально являющееся источником инфекции) и группы сравнения. В качестве группы сравнения были использованы 18 нуклеотидных последовательностей вариантов ВИЧ-1, полученных от пациентов, проживающих в Приморском крае, и 8 охарактеризованных нуклеотидных последовательностей, дополнительно взятых из международной базы данных GenBank.

Молекулярно-генетический анализ был проведен по двум генам — *pol*, *int* — и заключался

в определении субтипа, в расчете генетических дистанций и построении филогенетических деревьев.

Для получения нуклеотидных последовательностей ВИЧ-1 по участку гена *pol* использовали набор реагентов АмплиСенс® HIV-Resist-Seq (ФБУН «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Роспотребнадзора, Москва, Россия) согласно инструкции производителя [5]. Для получения нуклеотидной последовательности, содержащей ген *int*, проводили реакцию гнездовой ПЦР с использованием специфических праймеров. Условия и праймеры для амплификации подбирали на основе данных литературы [6]. Нуклеотидные последовательности получали методом популяционного секвенирования с использованием автоматического капиллярного ДНК-анализатора AppliedBiosystems 3500 GeneticAnalyzer (LifeTechnologies, США). Длина исследуемых фрагментов составила: для гена *pol* — 1100 нуклеотидов, гена *int* — 700 пар нуклеотидов.

Для сборки нуклеотидных последовательностей было применено специальное программное обеспечение «ДЕОНА» (ООО «МедАйТи Групп», Россия).

Для выравнивания полученных нуклеотидных последовательностей использовалась программа BioEdit v.7.1.9. Для идентификации близкородственных штаммов ВИЧ-1 полученные нуклеотидные последовательности 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 (версия 3), представленных на сайте Стенфордского университета (<http://hivdb.stanford.edu>), а также программы COMET HIV-1/2 (<http://comet.retrovirology.lu>). Расчет дистанций и филогенетический анализ выполняли с помощью программного обеспечения MEGA версии 6.0, путем построения филогенетических деревьев методом Maximum Likelihood с использованием модели эволюции GTR [7, 8]. Для оценки достоверности филогенетических связей использовали бутстрэп (bootstrap) анализ для 500 независимых построений каждого филогенетического древа. В качестве референс-штаммов для

<sup>1</sup> Эпидемиологический надзор за ВИЧ-инфекцией. Методические указания Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека РФ. М., 2016. 52 с. [Epidemiological surveillance of HIV infection. Methodical instructions of the Federal Service for Supervision of Consumer Rights Protection and Human Well-Being of the Russian Federation. Moscow, 2016. 52 p. (In Russ.)]. <http://www.hivrussia.info/wp-content/uploads/2019/05/Metodicheskie-ukazaniya-Epidnadzor-za-VICH.pdf>.

анализа были взяты варианты ВИЧ-1 из GenBank (<http://www.hiv.lanl.gov>).

**Результаты и их обсуждение.** Ребенок Б. родился в Приморском крае в 2011 г. от ВИЧ-положительной матери (ВИЧ-инфекция выявлена в марте 2004 г.), инфицированной ВИЧ при незащищенном гетеросексуальном контакте с гражданским мужем, являющимся внутривенным потребителем психоактивных веществ и ВИЧ-инфицированным с февраля 2002 г. (умер в 2009 г. от передозировки психоактивных веществ).

Мать ребенка во время беременности и в родах получала химиопрофилактику с целью предотвращения вертикальной трансмиссии ВИЧ, антиретровирусную терапию начала принимать с июня 2017 г., однако неоднократно прерывала прием препаратов, отмечалась низкая приверженность к лечению. С марта 2012 г. женщина состоит на диспансерном учете в туберкулезном диспансере с диагнозом «инфильтративный туберкулез легких», с марта 2012 по сентябрь 2015 г. находилась на стационарном лечении в государственном бюджетном учреждении здравоохранения «Приморский краевой противотуберкулезный диспансер». Биологический отец ребенка на ВИЧ-инфекцию не был обследован, с семьей проживал периодически, умер в 2018 г. (суицид).

Ребенок получил трехэтапную химиопрофилактику вертикальной передачи ВИЧ-инфекции, с рождения находился на искусственном вскармливании, состоял на учете в ГБУЗ «Краевая клиническая больница № 2», Центр по профилактике и борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями по перинатальному контакту с ВИЧ-инфицированной матерью, по месту жительства регулярно проходил рекомендованные обследования в рамках диспансерного наблюдения. Снят с учета по перинатальному контакту в возрасте 1 год 8 месяцев по совокупности результатов лабораторного обследования (отрицательных результатов обследования на ДНК ВИЧ в возрасте 1 месяц 15 дней и 7 месяцев; отрицательных результатов иммуноферментного анализа и иммунного блота в возрасте 1 год 6 месяцев и 1 год 8 месяцев), а также в связи с отсутствием каких-либо клинических проявлений инфекции.

В июне 2019 г. в детской городской поликлинике по месту жительства ребенок был обследован на ВИЧ-инфекцию в возрасте 8 лет 3 месяцев в соответствии с п. 1.1. Приказа ДЗПК № 997 от 17.11.2017 г. «Об обследовании детей с перина-

тальным контактом по ВИЧ-инфекции». У ребенка выявлены серологические маркеры ВИЧ в иммуноферментном анализе, подтвержденные в иммунном блоттинге. Для верификации результата у ребенка повторно была взята проба крови в ГБУЗ «Краевая клиническая больница № 2», Центр по профилактике и борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями. Подтвержден положительный результат на антитела/антигены ВИЧ в иммуноферментном анализе и иммунном блоте. При исследовании образца крови молекулярно-генетическим методом (качественный и количественный формат ПЦР) выявлена ДНК ВИЧ, вирусная нагрузка составила 16 587 коп/мкл. Относительный показатель уровня CD4+ Т-лимфоцитов был равен 28%, в абсолютных значениях — 952 кл/мкл, что соответствовало незначительному иммунодефициту для детей данной возрастной категории.

После осмотра врачом-педиатром Центра СПИД на основании клинических и лабораторных данных ребенку был выставлен диагноз «ВИЧ-инфекция 3, субклиническая стадия» и назначено обследование в соответствии со стандартами оказания медицинской помощи.

При проведении эпидемиологического расследования по случаю заражения ВИЧ-инфекцией ребенка 8 лет была опрошена мать, проведена проверка лечебных учреждений, оказывающих медицинскую помощь ребенку. Специалистом-экспертом отдела опеки и попечительства совместно с заведующей детской поликлиникой проведено обследование жилищно-бытовых условий проживания матери и ребенка. Мать категорически отрицала факт грудного вскармливания ребенка, признавала злоупотребление алкоголем. Женщина не работает в течение двух лет, семья живет на пособие по потере кормильца. Со слов матери ребенок бесконтрольно гуляет на улице, ходит на реку с детьми, пропускает уроки в школе. В семье были ссоры и драки между родителями. Со слов матери в мае 2018 г. после очередной драки ребенок голыми руками обрабатывал раны отца, затем срывал засохшие корочки с ран. В квартире созданы все необходимые условия для проживания несовершеннолетнего, но в то же время при осмотре личных вещей матери и ребенка было выявлено, что маникюрные принадлежности, мочалка в семье являются общими, зубные щетки членов семьи хранятся в одном футляре и соприкасаются друг с другом.

По данным амбулаторной карты ребенок наблюдался в детской поликлинике по месту прописки:

вакцинация проведена в полном объеме, в том числе БЦЖ-М в марте 2015 г. Дважды в 2018 г. перенесена ОРВИ, в марте 2018 г. — контагиозный моллюск. Ребенок не подвергался оперативным вмешательствам и гемотрансфузиям.

Ребенок в возрасте 4 лет 2 месяцев находился на лечении и реабилитации в ГБУЗ «Приморская детская краевая клиническая туберкулезная больница» с мая 2015 по май 2016 г. с диагнозом «Туберкулез внутригрудных лимфатических узлов бронхопульмональной группы слева, фаза инфильтрации, осложненное бронхолегочным поражением S6S8 левого легкого. МБТ(-)». При поступлении в стационар ГБУЗ «Приморская детская клиническая туберкулезная больница» ребенок был обследован на ВИЧ-инфекцию на базе ГБУЗ «Краевая клиническая больница № 2», Центра по профилактике и борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями, антител/антигена ВИЧ не обнаружено. За время нахождения в стационаре ребенок получал внутримышечные инъекции, проводился забор крови из вены на биохимический и клинический анализы, забор промывных вод желудка. Все инъекции осуществлялись одноразовыми шприцами, для промывания желудка применялись одноразовые стерильные зонды. Противотуберкулезная химиотерапия проводилась таблетированными препаратами. Ребенок осматривался узкими специалистами: врач-отоларинголог — июль 2015 г. (удаление серной пробки), апрель 2016 г. — осмотр врачом-стоматологом (даны рекомендации по лечению кариеса). В ноябре 2015 г. ребенок перенес ветряную оспу.

На момент проверки в ГБУЗ «Приморская детская краевая клиническая туберкулезная больница» нарушений требований инфекционной безопасности в медицинской организации не выявлено. В период пребывания ребенка в стационаре аварии при проведении процедур медицинскими работниками не зарегистрированы. За время нахождения на лечении в ГБУЗ «Приморская детская краевая клиническая туберкулезная больница» по контакту с ребенком находились 88 человек в туберкулезно-легочном отделении с мая 2015 по октябрь 2015 г. и 119 человек — в реабилитационном отделении с октября 2015 по май 2016 г. Все контактные лица были обследованы на ВИЧ-инфекцию с отрицательными результатами.

При медицинском обследовании на ВИЧ-инфекцию всех сотрудников ГБУЗ «Приморская детская краевая клиническая туберкулезная больница»

в 2015–2016 гг. положительных результатов не выявлено.

С целью исключения насильственных действий в отношении несовершеннолетнего лица в июне 2019 г. ребенок по месту жительства был обследован специалистами — гинекологом и хирургом, которые сделали заключение об отсутствии патологии. В июле 2019 г. врачом-психотерапевтом ГБУЗ «Краевая клиническая больница № 2», Центр СПИД в присутствии матери было проведено консультирование ребенка, психических отклонений у ребенка не выявлено.

В связи с отсутствием вероятности заражения ребенка интранатально, при грудном вскармливании, половым путем и при получении медицинской помощи, а также с учетом близкого контакта ребенка в домашних условиях с ВИЧ-инфицированной матерью, злоупотребляющей алкоголем и не стремящейся организовать безопасный быт, специалистами Центра СПИД в рамках данного эпидемиологического расследования было принято решение о проведении генотипирования и филогенетического анализа ВИЧ для уточнения источника инфекции.

По участку нуклеотидной последовательности региона *pol* были проанализированы 28 образцов, из них 2 пробы относились к исследуемой группе, 26 проб составили контрольную группу, из которых 18 были подобраны в регионе во время проведения расследования и 8 образцов были взяты из международной базы данных GenBank.

Анализ искомым последовательностей с целью определения субтипа ВИЧ показал, что 6 образцов, включая образцы исследуемой группы, относятся к субтипу суб-субтипу А6. Пять образцов контрольной группы принадлежали к циркулирующей рекомбинантной форме CRF63\_02A1 и другие 5 — к субтипу В, 2 пробы — к субтипу С, 1 образец (№ 2496) — к рекомбинантной форме CRF01\_AE, еще 1 образец (№ 2498) — к рекомбинантной форме CRF03\_AB.

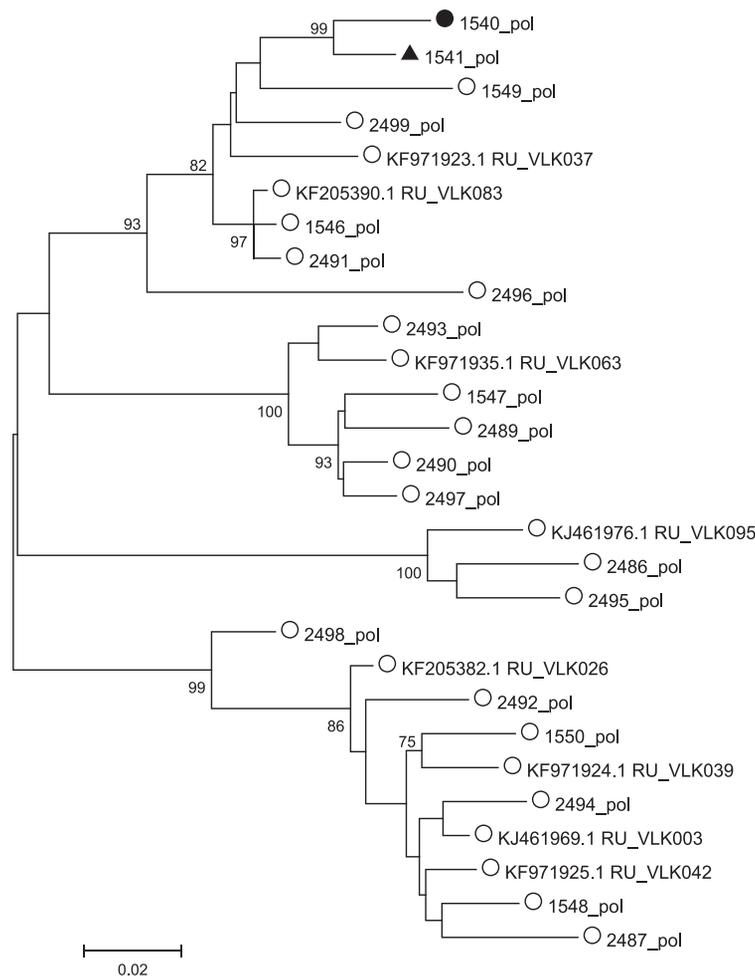
Дистанция, рассчитанная для нуклеотидных последовательностей, полученных от образцов исследуемой группы (ребенка и его матери), составила 0,031. Дистанция между нуклеотидными последовательностями образцов исследуемой группы и группы сравнения — от 0,043 до 0,146 (в среднем — 0,095). Полученные данные свидетельствуют о том, что нуклеотидная последовательность от реципиента (№ 1540) наиболее сходна с нуклеотидной последовательностью от потенциального источника (№ 1541). Проведенный

филогенетический анализ показал, что нуклеотидные последовательности исследуемых образцов № 1540 и № 1541 достоверно группируются на филогенетическом дереве, образуя общий кластер, отличный от образцов группы сравнения (рис. 1). Это говорит о высокой генетической близости исследуемых образцов, не исключающей эпидемиологической связи между ними.

По участку нуклеотидной последовательности региона *int* были проанализированы 28 последовательностей, из них 2 образца относились к той же

включая образцы исследуемой группы, относятся к суб-субтипу А6. Пять образцов контрольной группы относятся к циркулирующей рекомбинантной форме 63\_02A1, 3 пробы принадлежат к субтипу В, 1 образец (№ 2495) — субтипу С, 1 образец (№ 2496) — к рекомбинантной форме CRF01\_AE, для одного образца (№ 2498) получен дискордантный результат субтипирования: CRF03\_AB для региона *pol* и А — для региона *int*.

Дистанция, рассчитанная для нуклеотидных последовательностей, полученных от образцов



**Рис. 1.** Филогенетический анализ последовательностей по региону *pol*: ● — реципиент, ▲ — потенциальный донор, ○ — контрольная группа

**Fig. 1.** Phylogenetic analysis of sequences in the region *pol*: ● — recipient, ▲ — potential donor, ○ — control group

исследуемой группе, 15 — составили контрольную группу, подобранную в регионе во время проведения расследования. Дополнительно в качестве контроля использовали 11 охарактеризованных нуклеотидных последовательностей ВИЧ-1 из Приморского края, зарегистрированных в международной базе данных GenBank.

Анализ искомым последовательностей с целью определения субтипа показал, что 6 образцов,

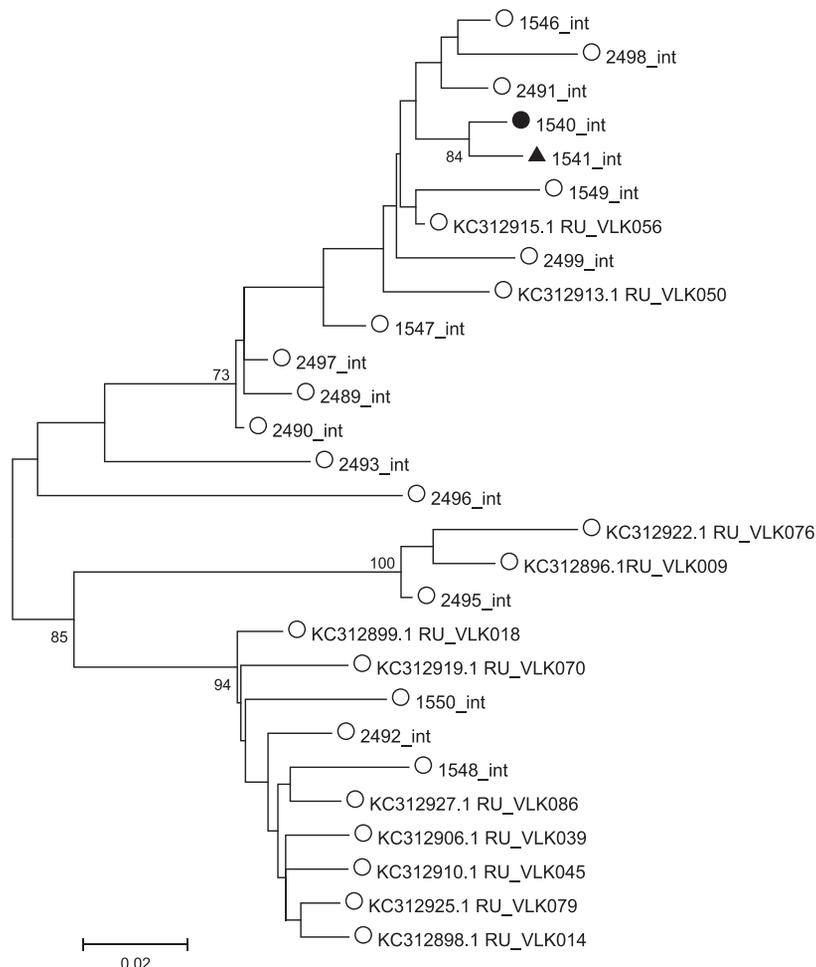
исследуемой группы, составила 0,016. Дистанция между нуклеотидными последовательностями образцов исследуемой группы и группы сравнения составила от 0,028 до 0,121 (в среднем 0,075).

Полученные данные свидетельствуют, что нуклеотидная последовательность от ребенка — реципиента (№ 1540) наиболее сходна с нуклеотидной последовательностью от матери — потенциального источника (№ 1541). Проведенный филогенетиче-

ский анализ показал, что нуклеотидные последовательности исследуемых образцов № 1540 и № 1541 достоверно группируются на филогенетическом дереве, образуя общий кластер, отличный от образцов группы сравнения (рис. 2). Высокая степень генетической близости исследуемых образцов не исключает эпидемиологической связи между ними.

Результаты этих исследований могут быть использованы в качестве доказательной базы для выявления источника инфекции при эпидемиологическом расследовании.

На основании итогов эпидемиологического расследования описанного случая, результатов лабораторного наблюдения от момента рождения



**Рис. 2.** Филогенетический анализ последовательностей по региону *int*: ● — реципиент, ▲ — потенциальный донор, ○ — контрольная группа

**Fig. 2.** Phylogenetic analysis of sequences in the region *int*: ● — recipient, ▲ — potential donor, ○ — control group

Таким образом, с помощью филогенетического анализа было показано, что штаммы ВИЧ-1, полученные от инфицированных пациентов № 1540 (ребенок) и № 1541 (мать), генетически более близки друг с другом, чем со штаммами из группы сравнения, и принадлежат к одному суб-субтипу А6. Это свидетельствует о вероятности наличия эпидемиологической связи между случаями ВИЧ-инфекции у матери и у ее ребенка.

**Заключение.** Применение современных молекулярно-генетических методов исследования, таких как филогенетический анализ, вносит значимый вклад в систему надзора за ВИЧ-инфекцией.

до даты постановки диагноза, а также данных генотипирования ВИЧ и филогенетического анализа можно сделать вывод о заражении ребенка от ВИЧ-инфицированной матери, ориентировочно в возрасте старше 4 лет, когда у него был получен последний отрицательный результат тестирования на маркеры ВИЧ. Риск заражения ребенка при оказании ему медицинской помощи с высокой долей вероятности можно исключить.

В связи с данными собственных наблюдений, а также аналогичными случаями инфицирования детей на других территориях РФ, представленными в литературе [4], и существующей вероятностью

артифициального пути инфицирования в условиях домашнего очага, очевидно, назрела необходимость совершенствования нормативных документов, регламентирующих алгоритм лабораторного монито-

ринга ВИЧ-инфекции для детей, проживающих в социально неблагополучных семьях, после их снятия с диспансерного учета по перинатальному контакту с ВИЧ-инфицированной матерью.

## ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. *Женщина, ребенок и ВИЧ* / под ред. Н.А.Белякова, Н.Ю.Рахманиной, А.Г.Рахмановой. СПб.: Балтийский медицинский образовательный центр, 2012. 600 с. [*Woman, child and HIV*. Ed. N.A.Belyakov, N.Yu.Rakhmanina, A.G.Rakhmanova. Saint Petersburg: Baltic medical education center, 2012, 600 p. (In Russ.)].
2. *Оказание помощи женщинам и детям с ВИЧ-инфекцией: медицинский тематический архив* / под ред. Н.А.Белякова, А.В.Самариной. СПб.: Балтийский медицинский образовательный центр, 2013. № 3. 166 с. [*Assisting women and children with HIV infection: medical thematic archive*, ed. N.A.Belyakov, A.V.Samarina. Saint Petersburg: Baltic medical education center, 2013, No. 3, 166 p. (In Russ.)].
3. Лопатухин А., Ладная Н., Кириллова Н., Киреев Д., Никотина Л., Щепинова О., Коннова Т. Применение методов генотипирования ВИЧ и филогенетического анализа при эпидемиологическом расследовании // *Врач*. 2015. № 2. С. 2–5. [Lopatukhin A., Ladnaya N., Kirillova N., Kireev D., Nikotina L., Schepinova O., Konnova T. Application of HIV genotyping and phylogenetic analysis in epidemiological investigations. *Doctor*, 2015, No. 2, pp. 2–5. (In Russ.)].
4. Abecasis A.B., Pingarilho M., Vandamme A.M. Phylogenetic analysis as a forensic tool in HIV transmission investigations // *AIDS*. 2018. Vol. 32. No. 5. P. 543–554.
5. Лопатухин А.Э., Киреев Д.Е., Поляков А.Н., Букин Е.К., Kaiser R., Luebke N., Кувевда Д.А., Шипулин Г.А. Первый опыт применения стандартизированной генотипической методики определения тропизма ВИЧ // *Клиническая лабораторная диагностика*. 2013. № 6. С. 46–48. [Lopatukhin A.E., Kireev D.E., Polyakov A.N., Bukin E.K., Kaiser R., Luebke N., Kuevda D.A., Shipulin G.A. The first experience of using a standardized genotypic technique for determining HIV tropism. *Clinical laboratory diagnostics*, 2013, No. 6, pp. 46–48 (In Russ.)].
6. Лага В.Ю., Казеннова Е.В., Васильев А.В., Лаповок И.А., Исмаилова А., Бейшеева Н., Асыбалиева Н., Бобкова М.Р. Молекулярно-генетическая характеристика вариантов ВИЧ-1, распространенных на территории Киргизии // *Вопросы вирусологии*. 2012. Т. 57, № 5. С. 26–32. [Laga V.Yu., Kazennova E.V., Vasiliev A.V., Lapovok I.A., Ismailova A., Beisheeva N., Asybalieva N., Bobkova M.R. Molecular genetic characteristics of HIV-1 variants prevalent in Kyrgyzstan. *Issues of Virology*, 2012, Vol. 57, No. 5, pp. 26–32 (In Russ.)].
7. 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. P. 2725–2729.
8. Лопатухин А.Э., Киреев Д.Е., Кувевда Д.А. Возможности молекулярных методов при проведении эпидемиологического расследования случаев ВИЧ-инфекции // *Материалы X съезда Всероссийского научно-практического общества эпидемиологов, микробиологов и паразитологов*. М., 2012. С. 417–418. [Lopatukhin A.E., Kireev D.E., Kuevda D.A. The possibilities of molecular methods in conducting an epidemiological investigation of HIV infections. *Materials of the X Congress of the All-Russian Scientific and Practical Society of Epidemiologists, Microbiologists and Parasitologists*. Moscow, 2012, pp. 417–418 (In Russ.)].

Поступила в редакцию/Received by the Editor: 08.06.2020 г.

### Авторство:

Вклад в концепцию и план исследования — Л.Ф.Скляр, С.Н.Бениова, В.О.Котова. Вклад в сбор данных — Е.И.Мирошниченко, Т.В.Гришкевич, Е.С.Махно. Вклад в анализ данных и выводы — С.П.Кругляк, Л.А.Балахонцева, О.Е.Троценко. Вклад в подготовку рукописи — О.А.Скалий, О.М.Григорян.

### Сведения об авторах:

*Кругляк Светлана Петровна* — кандидат медицинских наук, заведующий лабораторным отделением государственного бюджетного учреждения здравоохранения «Краевая клиническая больница № 2», Центр по профилактике и борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями; 690000, Владивосток, ул. Борисенко, д. 50; e-mail: ms.eva2009@mail.ru;

*Котова Валерия Олеговна* — заведующий лабораторией эпидемиологии и профилактики вирусных гепатитов и СПИДа федерального бюджетного учреждения науки «Хабаровский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека; 680610, Хабаровск, ул. Шевченко, д. 2; e-mail: dvaid@mail.ru, SPIN-код: 5424–8491;

*Мирошниченко Елена Ивановна* — заведующий отделом эпидемиологического надзора государственного бюджетного учреждения здравоохранения «Краевая клиническая больница № 2», Центр по профилактике и борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями; 690000, Владивосток, ул. Борисенко, д. 50; e-mail: reva-vi@yandex.ru;

*Скалий Ольга Артуровна* — врач-педиатр государственного бюджетного учреждения здравоохранения «Краевая клиническая больница № 2», Центр по профилактике и борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями; 690000, Владивосток, ул. Борисенко, д. 50; e-mail: kcspid@mail.ru;

Махно Екатерина Савельевна — врач-лаборант государственного бюджетного учреждения здравоохранения «Краевая клиническая больница № 2», Центр по профилактике и борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями; 690000, Владивосток, ул. Борисенко, д. 50; e-mail: Katerina196150@gmail.com;

Гришкевич Татьяна Владиславовна — врач-эпидемиолог отдела эпидемиологического надзора государственного бюджетного учреждения здравоохранения «Краевая клиническая больница № 2», Центр по профилактике и борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями; 690000, Владивосток, ул. Борисенко, д. 50; e-mail: tanya050765@mail.ru;

Скляр Лидия Федоровна — доктор медицинских наук, заместитель главного врача государственного бюджетного учреждения здравоохранения «Краевая клиническая больница № 2», Центр по профилактике и борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями; 690000, Владивосток, ул. Борисенко, д. 50; профессор Школы биомедицины федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Дальневосточный федеральный университет»; 690091, Приморский край, г. Владивосток, ул. Суханова, д. 8; e-mail: lidiya.sklyar@hotmail.com; ORCID 0000-0001-8466-2826; SPIN-код: 7001-8975; Бениова Светлана Николаевна — доктор медицинских наук, профессор, главный врач государственного бюджетного учреждения здравоохранения «Краевая клиническая больница № 2», Центр по профилактике и борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями; 690105, Владивосток, ул. Русская, д. 55; профессор Школы биомедицины федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Дальневосточный федеральный университет»; 690091, Приморский край, г. Владивосток, ул. Суханова, д. 8; e-mail: office@kkb2.ru; SPIN-код: 9715-7742;

Григорян Ованнес Мнацаканович — врач ультразвуковой диагностики государственного бюджетного учреждения здравоохранения «Краевая клиническая больница № 2», Центр по профилактике и борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями; 690000, Владивосток, ул. Борисенко, д. 50; аспирант Школы биомедицины федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Дальневосточный федеральный университет»; 690091, Приморский край, г. Владивосток, ул. Суханова, д. 8; e-mail: ov.grigorian@mail.ru; ORCID 0000-0003-3746-5875; SPIN-код: 3102-2994;

Балахонцева Людмила Анатольевна — руководитель Дальневосточного окружного центра по профилактике и борьбе со СПИД федерального бюджетного учреждения науки «Хабаровский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека; 680610, Хабаровск, ул. Шевченко, д. 2; e-mail: dvaid@mail.ru, SPIN-код: 6061-0551;

Троценко Ольга Евгеньевна — доктор медицинских наук, директор федерального бюджетного учреждения науки «Хабаровский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека; 680610, Хабаровск, ул. Шевченко, д. 2; e-mail: adm@hniiem.ru; SPIN-код: 1088-8195.