

УДК: 616.98:578.828HIV-036.22:001.8(571.16)"2012/2014"

## АНАЛИЗ ТЕКУЩЕЙ СИТУАЦИИ ПО РАЗВИТИЮ ЭПИДЕМИИ ВИЧ-ИНФЕКЦИИ В ТОМСКОЙ ОБЛАСТИ

Н.М. Гашникова<sup>1</sup>, А.В. Тотменин<sup>1</sup>, Д.П. Зырянова<sup>1</sup>, Е.М. Астахова<sup>1</sup>,  
В.В. Ивлев<sup>1</sup>, М.П. Гашникова<sup>1</sup>, Т.Н. Исмаилова<sup>2</sup>, А.С. Чернов<sup>2</sup>, В.Н. Михеев<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Федеральное бюджетное учреждение науки «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор», Кольцово

<sup>2</sup>Томский областной Центр по профилактике и борьбе со СПИД и другими инфекционными заболеваниями, Томск

*В 2013 году в Томской области была зарегистрирована вспышка ВИЧ-инфекции с ростом заболеваемости в 5,9 раза. Целью настоящей работы было проведение анализа текущей ситуации по развитию эпидемии ВИЧ-инфекции в данном регионе. Исследование показало, что современная эпидемия в области характеризуется замещением доминировавшего ранее субтипа А на CRF63\_02A1, увеличением генетического разнообразия циркулирующих вирусов благодаря активным рекомбинационным событиям в популяции ВИЧ-1 и появлению разнообразных URF63\_02A1/A ВИЧ-1.*

**Ключевые слова:** ВИЧ-1: эволюция, региональная гетерогенность, URFs, CRF63\_02A1.

### AN ANALYSIS OF THE CURRENT SITUATION FOR THE DEVELOPMENT OF THE HIV EPIDEMIC IN THE TOMSK OBLAST

*N.M. Gashnikova<sup>1</sup>, A.V. Totmenin<sup>1</sup>, D.P. Zyryanova<sup>1</sup>, E.M. Astahova<sup>1</sup>, V.V. Ivlev<sup>1</sup>,  
M.P. Gashnikova<sup>1</sup>, T.N. Ismailova<sup>2</sup>, A.S. Chernov<sup>2</sup>, V.N. Mikheev<sup>2</sup>*

<sup>1</sup>Department of Retroviruses, State research Center of Virology and Biotechnology Vector, Koltcovo

<sup>2</sup>Tomsk Regional Center for Prevention and Control of AIDS and Other Infectious Diseases, Tomsk

*In 2013 Tomsk oblast of Russia experienced HIV outbreak with 5.9-fold increase of morbidity. Aim of this work was to analyse the specific molecular epidemiological situation with HIV dissemination in Tomsk oblast. Current HIV epidemic in TO is characterised by substitution of earlier predominant subtype A to CRF63\_02A1, increase of genetic diversity of circulating viruses due to active recombination in HIV-1 population and appearance of 63\_02A1/A HIV-1 URFs.*

**Key words:** HIV-1: evolution, regional diversity, URFs, CRF63\_02A1, Tomsk oblast.

### Введение

Изучение эпидемий, развивающихся в разных странах мира, выявило территориальную специфику распространения ВИЧ-1 [7]. В России практически на протяжении всей эпидемии доминирующим генетическим вариантом ВИЧ-1 был субтип А, который выявлялся при ВИЧ-инфекции более, чем в 90% случаев, и около 4-8% лиц было инфицировано субтипом В ВИЧ-1. Аналогичная ситуация наблюдалась и на территориях Сибири [3, 5, 6, 9].

Отдел ретровирусов ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» занимается мониторингом за циркулирующими вариантами ВИЧ в Новосибирской области с конца 90-х годов. С целью определения принадлежности к генетическому варианту мы исследуем нуклеотидную последовательность области гена *pol*, кодирующую протеазу и ревертазу ВИЧ-1. В 2006 году нами выявлены первые случаи инфицирования пациентов Новосибирского центра СПИД новым для нашей территории вариантом – циркулирующей рекомбинантной формой, близкой к CRF02\_AG ВИЧ-1. Последующие исследования геномов новосибирских рекомбинантных вирусов (филогенетический и рекомбинационный анализы нуклеотидной последовательности расшифрованных геномов) выявили, что в Новосибирске распространяется не CRF02\_AG, а новый генетический вариант, которому в соответствии с международной номенклатурой было присвоено наименование CRF63\_02A1 ВИЧ-1. Одни области генома нового вируса были идентичны субтипу А ВИЧ-1, тогда как другие участки генома были идентичны последовательности CRF02\_AG ВИЧ-1 [1, 4]. В 2011 году при исследовании нами клинических образцов, полученных от лиц, инфицированных на разных территориях России, было доказано, что новая, описанная нами ре-

комбинантная форма CRF63\_02A1 ВИЧ-1 с разной распространенностью выявляется и на других территориях страны [2].

Целью настоящей работы было исследование текущей ситуации по развитию эпидемии ВИЧ-инфекции в Томской области.

#### **Материалы и методы**

Клинические образцы плазмы крови были собраны от впервые выявленных лиц с ВИЧ-инфекцией в январе-феврале 2014 (64 образца) и в ноябре 2014 (51 образец). Исследование клинических образцов крови проведено с соблюдением этических стандартов и требований Хельсинкской декларации 1975 года, требований Постановления Межпарламентской Ассамблеи государств - участников Содружества Независимых Государств от 18 ноября 2005 г. № 26-10 «О модельном законе «О защите прав и достоинства человека в биомедицинских исследованиях в государствах - участниках СНГ».

Из плазмы крови по стандартным методикам выделяли РНК ВИЧ-1. Генотипирование вариантов ВИЧ-1 проводили по трем областям генома, кодирующим: полноразмерную последовательность гена белка протеазы и частичную последовательность гена, кодирующего белок обратной транскриптазы *pol* (область *pro-rev*), белок интегразы (*in*) и основной белок оболочки вируса (ген *env*). Определение нуклеотидной последовательности осуществлялось на секвенаторе ABI PRISM 3100 (Applied Biosystems, США) с последующей обработкой первичных данных секвенирования в программе Sequencher 4.1.4 (GeneCodes, США). Филогенетический анализ выполняли с помощью программы "MEGA", версия 4.1, путем построения филогенетических деревьев методом ближайших соседей [8]. Нуклеотидные дистанции рассчитывали по методу Кимуры. В качестве референс-последовательностей использовали ранее охарактеризованные последовательности субтипов и групп ВИЧ-1 из международной базы данных (GenBank). Достоверность различий генетических характеристик штаммов ВИЧ 1 определяли методом бутстрэп-анализа при 500 повторениях. Поиск ближайших гомологов ВИЧ проводили с помощью online-программы BLAST Национального центра биотехнологической информации США (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>).

#### **Результаты и обсуждение**

Томская область, расположенная в Сибирском федеральном округе России, буквально до 2012 года относилась к территориям с низкой распространенностью ВИЧ. Общее количество зарегистрированных случаев инфицирования ВИЧ с начала эпидемии в области в январе 2013 года составило 1453 человека. С 2013 года в Томской области произошло резкое изменение эпидемической ситуации, за один год было выявлено 2020 новых случаев инфицирования ВИЧ-1. В 2013 году заболеваемость ВИЧ в среднем по области выросла более чем в 10 раз, а в некоторых населенных пунктах в 14 раз. В 81,3% случаев инфицирование произошло при употреблении наркотиков внутривенно. Анализ эпидемической ситуации показал, что рост эпидемии был вызван распространением на территории Томска и крупных населенных пунктов области синтетических наркотиков. С целью изучения циркулирующих генетических вариантов ВИЧ за 2,5 месяца 2014 года в Томском областном центре СПИД были собраны клинические образцы крови 64 пациентов, что составило 12,3% от общего количества впервые диагностированной ВИЧ-инфекции за этот период.

Генотипирование вариантов ВИЧ-1 нами осуществлялось по областям генома, кодирующим протеазу (область гена *pol*) и основной белок оболочки вируса (ген *env*). Для 58 клинических образцов плазмы были получены и расшифрованы фрагменты гена *pol*, кодирующие протеазу, для 40 образцов - область гена *env* ВИЧ-1. Для трех образцов крови с концентрацией РНК ВИЧ-1 менее 400 копий в мл получить фрагменты вирусного генома не удалось.

Филогенетический анализ, проведенный для нуклеотидных последовательностей исследованных генов, выявил неожиданное распределение генетических вариантов ВИЧ-1. В 55 (90,2%) исследованных случаев была выявлена CRF63\_02A1 ВИЧ-1, у 3-х пациентов (4,9%) обнаружен субтип А ВИЧ. В 3-х образцах (4,9%), вероятно, присутствовали уникальные рекомбинантные формы (URF), так сказать, третичные рекомбинанты CRF63\_02A1/А ВИЧ-1, так как фрагменты гена *pol* кластеризовались с субтипом А ВИЧ-1, при этом последовательности гена *env* ВИЧ-1 принадлежали кластеру CRF63\_02A1.

Позднее для 25 образцов были получены фрагменты генома, кодирующие интегразу ВИЧ-1. Изучение нуклеотидной последовательности области интегразы вариантов ВИЧ-1 внесло некоторые коррективы, так как два варианта CRF63\_02A1 и один вирус субтипа А также оказались URF. В итоге распределение геновариантов ВИЧ-1 выглядело следующим образом: 86,9% CRF63\_02A1, 3,3% ВИЧ-1 субтипа А и не менее, чем в 6 случаях (9,8%), были выявлены уникальные рекомбинантные формы ВИЧ-1. Пять URF были образованы в результате рекомбинации CRF63\_02A1 и субтипа А ВИЧ-1 и отличались по локусам рекомбинации, а фрагменты одной URF были частично идентичны CRF63\_02A1 и CRF02\_AG ВИЧ-1.

Для 43 клинических образцов плазмы крови, собранных от впервые выявленных лиц с ВИЧ-инфекцией в ноябре 2014 года, были получены вирусспецифические фрагменты. Генотипирование проводили по результатам филогенетического анализа областей *pro-rev*, *int* и *env* ВИЧ-1.

Генотипирование исследуемых ВИЧ-1 также выявило преобладание CRF63\_02A1 ВИЧ-1 (70,7%). CRF02\_AG ВИЧ-1, которая эпизодически выявляется в разных регионах России, была найдена в 3,85%. Различные URF63\_02A1/A1 были зарегистрированы не менее, чем в 9,8% случаев. Распространенность субтипа А оказалась несколько выше – 14,6% (6 случаев). При этом только для 3-х образцов (7,3%) в настоящее время получены и проанализированы все три области генома. Для трех оставшихся вариантов ВИЧ-1 удалось получить и генотипировать лишь по одной области генома, которая относится к субтипу А ВИЧ-1. Так как не для каждого из вариантов ВИЧ ещё проанализированы фрагменты *rev*, *int* и *env*, возможно, реальная распространенность URF может быть и выше.

### **Выводы**

Современная эпидемия в Томской области характеризуется замещением доминировавшего ранее субтипа А на CRF63\_02A1, увеличением генетического разнообразия циркулирующих вирусов благодаря активным рекомбинационным событиям в популяции ВИЧ-1 и появлению разнообразных URF63\_02A1/A ВИЧ-1.

На примере Томской и Новосибирской областей показано, что на территориях, характеризующихся высокими темпами развития эпидемии ВИЧ-инфекции, возможно появление и быстрое распространение новых генетических вариантов ВИЧ-1. В связи со сказанным выше, необходимо осуществление регулярного и планомерного молекулярно-эпидемиологического мониторинга за циркулирующими вариантами ВИЧ-1, который позволит изучить региональные особенности развития эпидемии и разработать наиболее эффективные меры противодействия её распространению.

### **Литература**

1. Baryshev PB, Bogachev VV, Gashnikova NM. Genetic characterization of an isolate of HIV type 1 AG recombinant form circulating in Siberia, Russia. *Archives of Virology*. 2012;157(12):2335-2341
2. Baryshev PB, Bogachev VV, Gashnikova NM. The HIV-1 Genetic Diversity in Russia: CRF63\_02A1, a New HIV-1 Genetic Variant Spreading in Siberia. *AIDS Research and Human Retroviruses*. doi:10.1089/aid.2013.0196
3. Bogachev VV, Totmenin AV, Baryshev PB, et al.: Molecular-genetic characteristic of HIV-1 A and B subtypes variants isolated in Novosibirsk region. *Zh. Microbiol.* 2012;6:45-52.
4. Gashnikova NM, Safronov PF, Nikonorova YuV, et al. Properties of CRF02\_AG HIV-1 isolates circulating in Novosibirsk region. *Zh. Mikrobiol.* 2011;3:38-43.
5. Hemelaar J, Gouws E, Ghys PD, Osmanov S. Global and regional distribution of HIV-1 genetic subtypes and recombinants in 2004. *AIDS*, 2006;20:W13-23.
6. Riva C, Romano L, Saladini F, et al.: Identification of a possible ancestor of the subtype A1 HIV Type 1 variant circulating in the former Soviet Union. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 2008;24(10):1319-1325.
7. Robertson DL, Anderson, J.A. Bradac JA et al.: HIV-1 nomenclature proposal. *Science*. 2000;288:55–56.
8. Tamura K., Dudley J., Nei M., Kumar S. MEGA4: Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) software version 4.0. *Mol. Biol. Evol.* 2007, 24: 1596-1599.
9. Thomos MM, de Parga EV, Vinogradova A, et al.: New insights into the oring of the HIV type 1 subtype A epidemic in former Soviet Union's countries derived from sequence analyses of preepidemicly transmitted viruses. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 2007;23(12):1599-1604.

### **Сведения об авторах**

**Гашникова Наталья Матвеевна** – к.б.н., заведующая отделом ретровирусов ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор», E-mail: ngash@ngs.ru.