

УДК: 575.616.98:578.828HIV:001.893(571.6)

ВОЗМОЖНОСТЬ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОГО ТИПИРОВАНИЯ ВИЧ-1 В ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОЙ ПРАКТИКЕ В ДАЛЬНЕВОСТОЧНОМ ФЕДЕРАЛЬНОМ ОКРУГЕ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

В.О. Котова, Е.А. Базыкина, Л.А. Балахонцева, О.Е. Троценко

ФБУН Хабаровский НИИ эпидемиологии и микробиологии Роспотребнадзора, г. Хабаровск

Цель работы – охарактеризовать современную эпидемиологическую ситуацию по ВИЧ-инфекции в Дальневосточном федеральном округе (ДФО), оценить молекулярно-генетическое разнообразие вируса иммунодефицита человека и продемонстрировать возможность использования полученных результатов исследования в практической эпидемиологии.

*Материалы и методы. Проведен ретроспективный анализ эпидемической ситуации по ВИЧ-инфекции в ДФО за 2006-2018 гг. с использованием показателей пораженности и заболеваемости. Молекулярно-генетическим анализом охвачено 211 образцов плазмы крови от ВИЧ-инфицированных пациентов, проживающих на территории Дальневосточного федерального округа. Нуклеотидные последовательности генома ВИЧ-1 выявляли методом секвенирования амплифицированных фрагментов гена *pol*, кодирующей протеазу и часть обратной транскриптазы ВИЧ-1. Филогенетический анализ выполняли с помощью программы MEGA версии 6.0, путем построения филогенетических деревьев методом ближайших соседей.*

Результаты исследования. В ДФО отмечен поступательный характер динамики эпидемического процесса с темпами ежегодного прироста заболеваемости ВИЧ-инфекцией, опережающими среднероссийские показатели. Эпидемии ВИЧ-инфекции в ДФО свойственна выраженная территориальная неравномерность проявлений. Наибольшая интенсивность эпидемического процесса реализуется в регионах с приграничным расположением к КНР (Приморский и Хабаровский края). Проведенное молекулярно-генетическое исследование показало, что на большинстве анализируемых территорий ДФО продолжает доминировать генетический вариант IDU-A, на долю которого пришлось 70,1±3,2%. В ДФО отмечена циркуляция субтипа В, который был выявлен в 14 случаях (6,6±1,7%), и субтипа С, идентифицированного у 4 (1,9±0,9%) ВИЧ-инфицированных округа. Среди остальных обследованных ВИЧ-инфицированных пациентов ДФО обнаружены рекомбинантные формы ВИЧ-1 и определен их спектр.

Заключение. Результаты молекулярно-генетических исследований могут быть использованы в выявлении завозных случаев заболевания, эпидемиологической связи между случаями ВИЧ-инфицирования, возможных путей заражения и географического распространения возбудителей.

Ключевые слова: ВИЧ-инфекция, эпидемический процесс, субтипы ВИЧ-1, филогенетический анализ, Дальневосточный федеральный округ

APPLICATION OF RESULTS OF HIV-1 MOLECULAR-GENETIC TYPING IN EPIDEMIOLOGICAL PRACTICE IN THE FAR EASTERN FEDERAL DISTRICT OF THE RUSSIAN FEDERATION

V.O. Kotova, E.A. Bazykina, L.A. Balakhontseva, O.E. Trotsenko

FBIS Khabarovsk research institute of epidemiology and microbiology of the Federal service for surveillance on consumers rights protection and human wellbeing (Rospotrebnadzor), Khabarovsk

Objective – to describe current epidemiologic situation concerning HIV-infection in the Far Eastern federal district (FEFD) as well as evaluate molecular-genetic diversity of human immune deficiency virus and demonstrate applicability of the obtained results in practical epidemiology.

Materials and methods. A retrospective analysis of epidemic situation including evaluation of HIV-infection prevalence and incidence during 2006-2018 years was conducted. Molecular genetic analyses was performed for 211 plasma samples obtained from HIV-infected residents of the Far Eastern federal district. Nucleotide sequences of HIV-1 genome were identified via sequencing the amplified

pol gene fragments that is coding HIV protease and a part of reverse transcriptase. Phylogenetic analysis was performed with MEGA v. 6.0. Software. Neighbor joining method was utilized to build phylogenetic trees.

Results of the research. An increasing forward trend of HIV-infection epidemic process exceeding those in Russian Federation were revealed in the FEFD. HIV-infection epidemic in the FEFD is notable for variance of territorial indices. The highest intensity of the epidemic process was revealed in border regions near China (Primorsky and Khabarovsk regions). Molecular-genetic research showed that in most of the FEFD territories a genetic variant IDU-A continues to be prevalent in 70.1±3.2% of the cases. Circulation of HIV B subtype was detected in 14 cases (6.6±1.7%). Subtype C was identified in 4 (1.9±0.9%) HIV-infected residents of the FEFD. HIV recombinant forms were revealed among the rest examined patients. The specter of recombinant forms was evaluated.

Conclusion. The results of molecular-genetic research can be used to reveal imported cases of the disease, epidemiological connection between cases of HIV-infection, potential infection route and geographic spread of pathogen.

Key words: HIV-infection, epidemic process, HIV-1 subtypes, phylogenetic analysis, Far Eastern federal district

Введение

По данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), на конец 2018 года в мире насчитывалось около 37,9 миллионов людей, пораженных ВИЧ, а 770 тыс. людей умерли от ВИЧ-ассоциированных заболеваний [16]. Интенсивный рост заболеваемости ВИЧ-инфекцией, произошедший в большинстве регионов РФ в начале 21 века (1999-2001 гг.), был связан с внедрением возбудителя в среду потребителей инъекционных наркотиков. Стремительная распространенность наркомании привела к взрывному характеру течения эпидемии ВИЧ-инфекции в Северо-Западном, Уральском и Сибирском федеральных округах [5, 6, 8]. Впоследствии ВИЧ стал более медленно распространяться среди населения России вследствие превалирования полового пути передачи.

Пораженность населения России ВИЧ-инфекцией в 2018 г. в среднем по стране составила 686,2 на 100 тыс. человек. В ряде регионов России эпидемия ВИЧ вошла в последнюю, третью стадию, приобретая генерализованный характер [10]. За счет значительной генетической вариативности ВИЧ-1 возникла необходимость углубленного изучения его структуры для осуществления эффективного молекулярно-эпидемиологического мониторинга за ВИЧ-инфекцией и выявления закономерностей распространения пандемии [7, 11].

Молекулярно-генетический мониторинг распространения вариантов ВИЧ-1 на территории Российской Федерации, который проводится, начиная с первого случая ВИЧ-инфекции в 1987 году, показал, что в России в настоящее время циркулирует более 10 генетических вариантов ВИЧ-1 [2, 4]. Наибольшую распространенность получил генетический вариант IDU-A (injecting drug use - A), впервые обнаруженный в группе потребителей наркотиков, позднее классифицированный как суб-субтип A6 [13]. В настоящее время он продолжает доминировать на большинстве территорий РФ [12]. Другие субтипы и рекомбинантные формы встречаются реже, занимая различные доли в зависимости от региона. В последние годы на отдельных территориях страны регистрируется все более активное распространение новой циркулирующей рекомбинантной формы ВИЧ-1, обозначаемой CRF63_02-A1 [1, 3].

Изучение генетических характеристик ВИЧ-1, как постоянно циркулирующих, так и появляющихся новых его вариантов, представляется на территориях Российской Федерации, в том числе в ДФО, крайне актуальным в связи с тем, что генетические варианты вируса могут различаться по своим биологическим свойствам, по скорости эволюции вируса и прогрессирования заболевания. Более того, анализ территориальной специфики распространения различных генетических вариантов вируса (в том числе новых рекомбинантных форм) в конкретных очагах, группах риска заражения является важной частью системы эпидемиологического надзора за ВИЧ-инфекцией.

Цель данного исследования - охарактеризовать современную эпидемиологическую ситуацию по ВИЧ-инфекции в Дальневосточном федеральном округе (ДФО), изучить распространенность генетических вариантов ВИЧ-1 среди ВИЧ-инфицированных пациентов, проживающих на территориях Дальневосточного федерального округа, включая регионы с низким показателем пораженности, и продемонстрировать возможность использования полученных результатов исследования в практической эпидемиологии.

Материалы и методы

Ретроспективный анализ эпидемической ситуации по ВИЧ-инфекции в ДФО включал изучение показателей пораженности и заболеваемости. Для выполнения поставленных задач были использованы материалы, предоставленные территориальными центрами по борьбе и профилактике со СПИ-Дом (Хабаровский, Приморский, Камчатский края, Республика Саха (Якутия), Чукотский автономный округ, Сахалинская, Амурская, Магаданская области и Еврейская автономная область), а также данные Федеральной службы государственной статистики за период времени 2006-2018 гг.

Динамика многолетних уровней заболеваемости и пораженности с определением эпидемических тенденций оценивалась в соответствии с критериями, предложенными В.Д. Беляковым с соавт. (1981): темп прироста (снижения) от 0 до 1,0% соответствовал стабильным показателям, от 1 до 5% - умеренной или средне выраженной динамике показателей, при темпе прироста (снижения) более 5,0% тенденция считалась выраженной. Для описания качественных признаков (относительных величин) использовали показатели частоты из расчета на 100 и 100 000 и т.п., показатели распределения (%), а также стандартной ошибки (m) относительных величин (P), где Iвыб – выборочный показатель, Q – 100

- Iвыб (или 100 000 - Iвыб и т.д.), n - объем выборки: $m = \sqrt{\frac{I_{\text{выб}} \times Q}{n}}$. При относительных показателях,

равных 0 или 100%, ошибка (m) рассчитывалась по следующей формуле: $m = \frac{t^2 \times 100}{n + t^2}$, где t – коэффициент достоверности (равен 2 при уровне достоверности 95%), n - объем выборки. Оценка статистической достоверности различий (p) эпидемиологических показателей проводилась с помощью параметрических методов (двух выборочный t-критерий Стьюдента). Показатели считались достоверными при уровне значимости $p < 0,05$.

Молекулярно-генетическим анализом охвачено 211 образцов плазмы крови от ВИЧ-инфицированных пациентов, проживающих на территории Дальневосточного федерального округа, в том числе в Хабаровском крае - 53 (25,1%) образца, в Еврейской автономной области (ЕАО) - 56 (26,5%) образцов, Республике Саха (Якутия) – 35 (16,6%) образцов, Магаданской области – 14 (6,6%) образцов, Амурской области - 11 (5,2%) образцов, Сахалинской области – 38 (18,0%) образцов и в Чукотском автономном округе (ЧАО) – 4 (2,0%) образца. Все пациенты были зарегистрированы в региональных Центрах по профилактике и борьбе со СПИД с диагнозом «ВИЧ-инфекция».

Выделение РНК ВИЧ-1 проводили с использованием коммерческого набора «РИБО-золь-Е» (ФБУН «Центральный НИИ эпидемиологии» Роспотребнадзора, Москва). Нуклеотидные последовательности генома ВИЧ-1 выявляли методом секвенирования амплифицированных фрагментов гена *pol*, кодирующей протеазу и часть обратной транскриптазы ВИЧ-1, с использованием тест-системы «АмплиСенс® HIV-Resist-Seq» (производства ФБУН "Центральный НИИ эпидемиологии" Роспотребнадзора), согласно инструкции производителя.

Секвенирование очищенных амплифицированных фрагментов ДНК проводилось с использованием набора реагентов «BigDye Terminator™ v 3.1» на генетическом анализаторе Applied Biosystems 3500 Genetic Analyzer (Life Technologies, США). 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>). Оценка 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. Филогенетический анализ выполняли с помощью программы MEGA версии 6.0, путем построения филогенетических деревьев методом ближайших соседей. Генетические дистанции между нуклеотидными последовательностями рассчитывали по двухпараметрическому методу Kimura. Для оценки достоверности филогенетических связей использовали бутстрэп (bootstrap) анализ для 500 независимых построений каждого филогенетического дерева [15].

Результаты и обсуждение.

Дальний Восток России на протяжении многих лет наблюдения отличается более низкими показателями распространенности и заболеваемости ВИЧ-инфекцией, чем в целом по РФ. Однако с 2006 по 2018 гг. ВИЧ-инфекция по ДФО стала распространяться опережающими темпами, по сравнению с предыдущими годами. Средний темп прироста показателей заболеваемости составил в 2006-2018 гг. в ДФО 9,75%. В 2018 г., на фоне снижения (на 4,9%) среднего по РФ уровня заболеваемости [9], в ДФО напротив отмечен рост показателя на 7,8%. К концу 2018 г. уровни распространенности и заболеваемости ВИЧ-инфекцией в целом по ДФО всё ещё оставались в 2,2 и 1,8 раза ниже среднероссийских, составив, соответственно, $315,7 \pm 2,3$ и $38,79 \pm 0,99$ на 100 тыс. населения (рис. 1.).



Рис.1. Динамика изменения уровней пораженности и заболеваемости (на 100 тыс. населения) ВИЧ-инфекцией в ДФО и Российской Федерации (2006-2018 гг.)

Максимальная на Дальнем Востоке России интенсивность эпидемического процесса ВИЧ-инфекции на протяжении всего изучаемого периода наблюдалась среди населения Приморского края. Данная тенденция сохранялась и в 2018 г., когда распространенность ВИЧ превысила 0,5% среди общего населения края и оказалась практически в 2 раза выше среднего по ДФО: $574,27 \pm 5,46$ случаев на 100 тыс. населения и $315,7 \pm 2,26$ случаев на 100 тыс. населения ($p < 0,001$, $t = 43,89$), соответственно. Наиболее высокий показатель заболеваемости ВИЧ-инфекцией среди населения на протяжении всего периода наблюдения зафиксирован в Приморском крае ($74,27 \pm 5,46$ случаев на 100 тыс. населения).

На остальных территориях, за исключением Магаданской области, где статистически достоверного отличия от средне-окружного уровня не выявлено ($335,90 \pm 15,24$ 0/0000, $p = 0,17$), пораженность оказалась значительно ниже среднего значения распространенности ВИЧ-инфекции по ДФО, а в Амурской области зарегистрирован один из самых низких уровней распространенности ВИЧ в стране ($88,55 \pm 3,33$ случаев на 100 тыс. населения).

При ранжировании субъектов Дальневосточного региона по показателю заболеваемости ВИЧ-инфекцией в 2019 г. оказалось, что Приморский край ($61,84 \pm 1,80$ случаев на 100 тыс. населения) и ЧАО ($62,01 \pm 11,13$ случаев на 100 тыс. населения) занимают первое ранговое место с наибольшими уровнями заболеваемости. Приморский край отличается множеством портовых зон и хорошо развитой сетью автомобильной, железнодорожной и воздушного сообщений с зарубежными странами, что способствовало более значительному распространению наркомании, а, как известно, при парентеральном пути передачи ВИЧ риск инфицирования может достигать 100%. Наименьшие уровни заболеваемости выявлены в Амурской области ($15,03 \pm 1,37$ случаев на 100 тыс. населения) и Республике Саха (Якутия) ($14,94 \pm 1,25$ случаев на 100 тыс. населения).

С учетом особенностей эпидемического процесса ВИЧ-инфекции, выявленных на территориях ДФО, проведен анализ субтипов ВИЧ-1, циркулирующих в данных регионах. В результате проведенных исследований 211 полученных в ДФО нуклеотидных последовательностей фрагментов гена *pol*, кодирующей протеазу и часть обратной транскриптазы ВИЧ-1, были подвергнуты предварительному анализу с целью определения генетического варианта ВИЧ-1 с помощью онлайн-программ: REGA HIV-1 Subtyping Tool (версия 2) и COMET HIV-1. Результаты этого анализа представлены в табл. 1.

Установлено, что среди ВИЧ-инфицированных лиц, постоянно проживающих на территории ДФО, продолжает доминировать суб-субтип А6, который был выявлен в 148 ($70,1 \pm 3,1\%$) случаях. У 14 человек был определен субтип В ($6,6 \pm 1,7\%$), у 4 ($1,9 \pm 0,9\%$) – субтип С, у 3 ($1,4 \pm 0,8\%$) – рекомбинантная форма CRF01_AE, в 2 случаях была выявлена рекомбинантная форма CRF03_AB ($1,0 \pm 0,7\%$) и 1 образец был определен, как рекомбинантная форма CRF11_spx (Сахалинская область) – ($0,5 \pm 0,5\%$).

Необходимо отметить, что в 39 ($18,5 \pm 2,7\%$) случаях по результатам предварительного генотипирования с помощью программы REGA HIV-1 Subtyping Tool (версия 3) была определена рекомбинантная форма вируса подтипа А/Г – CRF02_AG, которая в настоящее время более широко распространена в странах Западной и Центральной Африки, в Казахстане, Узбекистане, Таджикистане, а на территории РФ – в Алтайском крае и в Новосибирской области.

Таблица 1

Распространенность геновариантов ВИЧ-1 на территории Дальневосточного федерального округа (ДФО)

(по результатам генотипирования с использованием программы REGA HIV-1 Subtyping Tool (версия 3))

Территория	Кол-во образцов	Субтип А	Субтип В	Субтип С	CRF02_AG	CRF01_AE	CRF03_AB	CRF11_cpx
Хабаровский край	53	41	4	0	6	2	0	0
Еврейская автономная область	56	23	6	2	25	0	0	0
Амурская область	11	8	0	1	2	0	0	0
Магаданская область	14	13	0	0	1	0	0	0
Республика Саха (Якутия)	35	28	2	1	4	0	0	0
Сахалинская область	38	31	2	0	1	1	2	1
ЧАО	4	4	0	0	0	0	0	0
ДФО	211 100%	148 70,1±3, 1%	14 6,6±1, 7%	4 1,9±0, 9%	39 18,5±2, 7%	3 1,4±0, 8%	2 1,0±0, 7%	1 0,5±0, 5%

При проведении дополнительного анализа этих образцов с помощью программы COMET HIV-1 – 36 из 39 проб были отнесены к рекомбинантной форме CRF63_02A1, а в 3 случаях получен неопределенный результат.

Для подтверждения результатов генотипирования, а также выяснения происхождения и возможного родства вариантов ВИЧ, циркулирующих на территориях ДФО, был проведен филогенетический анализ 211 нуклеотидных последовательностей гена *pol*, кодирующей протеазу и обратную транскриптазу. Для подбора образцов последовательностей ВИЧ-1 в качестве групп сравнения использовали базу данных Лос-Аламосской национальной лаборатории (ЛАНЛ), США (<http://hiv.lanl.gov>).

Филогенетический анализ произвольно выбранных образцов, отнесенных по результатам генотипирования к суб-субтипу А6, показал, что все нуклеотидные последовательности из анализируемых регионов кластеризуются на одной ветви филогенетического древа с ранее полученными последовательностями той же области вариантов IDU-A, выделенными в разные годы в различных регионах Российской Федерации. Для популяции ВИЧ-1 субтипа IDU-A, циркулирующей на изучаемых территориях ДФО, оказалась характерной высокая генетическая гомогенность и отсутствие выраженной кластеризации по каким-либо признакам.

Напротив, филогенетический анализ 14 образцов ВИЧ-1 субтипа В выявил, что исследуемые варианты ВИЧ-1, выделенные от пациентов, проживающих на территориях ДФО, имеют тенденцию к кластеризации по предполагаемым путям инфицирования (рис. 2). В качестве референсных использовались нуклеотидные последовательности, представленные в GenBank из разных регионов мира. Первый кластер был сформирован 6 последовательностями ВИЧ-1 от пациентов, зараженных в результате гетеросексуальных контактов и проживающих на территории ЕАО (5603, 10203, 18603, 5803, 10703, 26903), 3 – на территории Хабаровского края (6901, 12601, 13501), 2 – в Республике Саха (Якутия) (3105, 3005) и 1 – в Сахалинской области (22307).

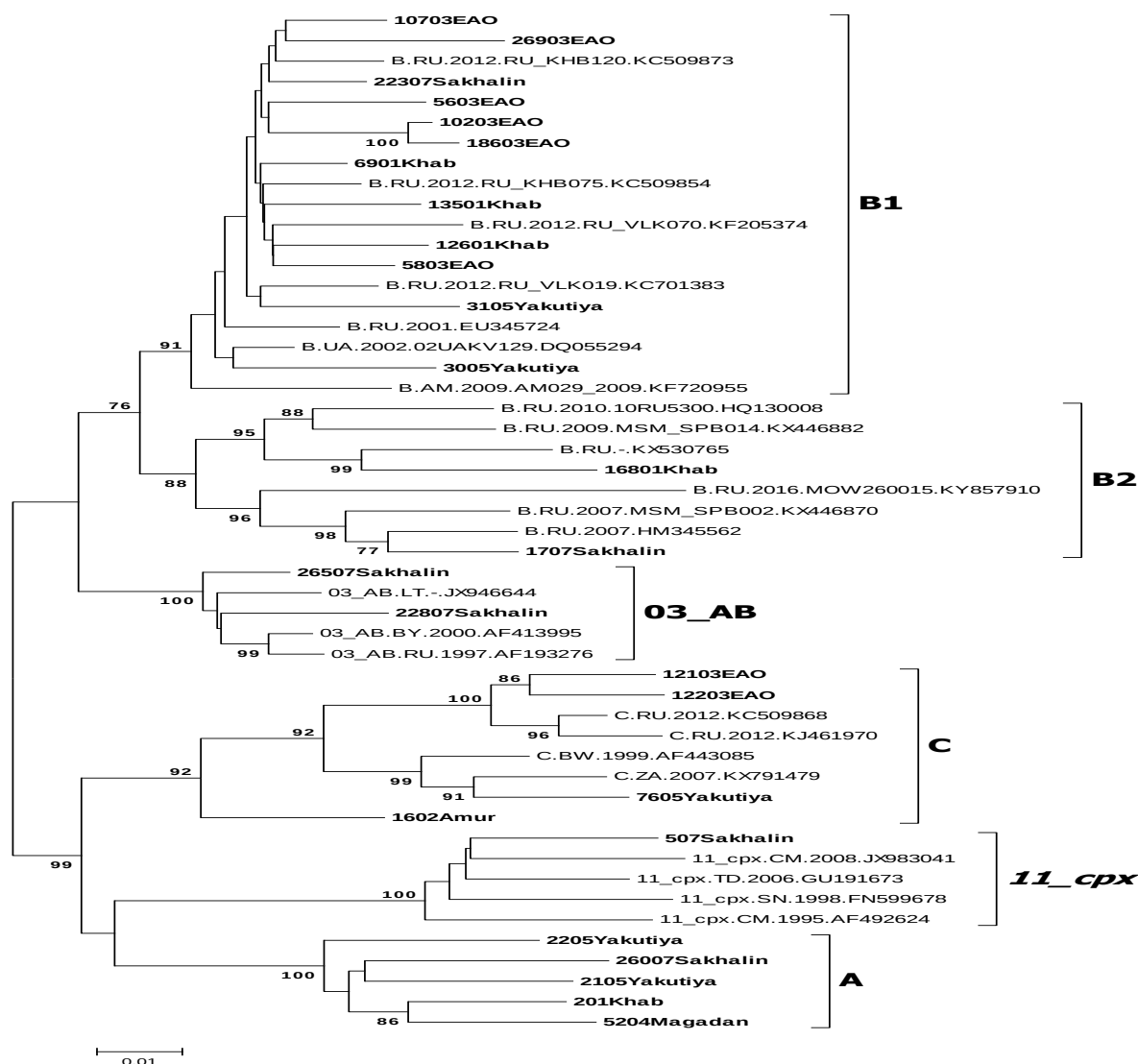


Рис. 2. Результат филогенетического анализа нуклеотидных последовательностей области гена *pol* генетических вариантов субтипов В, С, 03_AB и 11_cpx ВИЧ-1, выделенных от пациентов, проживающих на территории ДФО

Данная группа ВИЧ-1 оказалась наиболее близка к штаммам ВИЧ-1, которые уже были описаны в 2012 году группой исследователей на некоторых территориях ДФО (Приморском и Хабаровском краях, Амурской области), а также сходной с образцами, выделенными в 2009 году в Армении (GenBank KF720955) и в 2002 году на Украине (GenBank DQ055294). Два образца ВИЧ-1 (16801 1707) от ВИЧ-инфицированных мужчин из Хабаровского края (от жителя г. Комсомольск-на-Амуре, путь заражения которого установлен не был) и Сахалинской области (инфицированного при гомосексуальном контакте) образовали самостоятельный кластер, который был наиболее близок к вариантам ВИЧ, изолированным в группе мужчин, имеющих секс с мужчинами (МСМ), в 2007 и 2009 годах в г. Санкт-Петербурге, в 2012 году – в г. Ноябрьске (Ямало-Ненецкий автономный округ), в 2010 году – в Новосибирской области, в 2007 и в 2016 годах – в Москве. Полученные результаты филогенетического анализа могут быть использованы при проведении эпидемиологического расследования для предположения конкретного пути заражения у пациента с неизвестным эпидемиологическим анамнезом.

Филогенетический анализ нуклеотидных последовательностей вариантов ВИЧ-1 субтипа С, выявленных в ДФО, показал, что два варианта ВИЧ-1 субтипа С (12103, 12203) из ЕАО объединились на одной ветви с образцами, выделенными в 2012 году в Хабаровском и Приморском краях (рис. 2). Вариант 7605 от ВИЧ-инфицированной пациентки из Республики Саха (Якутия) был родственен пробам из Ботсваны (1999 год) и Южной Африки (2007 год). Образец 1602 из Амурской области имел меньшую степень гомологии с представителями образовавшегося кластера.

На территориях ДФО, помимо субтипов А, В и С, в последние годы регистрируется появление циркулирующих рекомбинантных форм ВИЧ-1. Филогенетический анализ, проведенный для двух рекомбинантных вариантов ВИЧ-1, выделенных от пациентов, проживающих на территории Сахалинской области, подтвердил их принадлежность к рекомбинантной форме вируса подтипа А/В - CRF03_AB,

которая была впервые изолирована в Калининграде и получила распространение среди потребителей инъекционных наркотиков в России и в Украине (рис. 2). Один вариант был выделен от пациентки, инфицированной в 1997 году при гетеросексуальном контакте с бисексуальным партнером, не употребляющим наркотики, и второй – от пациентки, инфицированной в 2013 году при наркотическом контакте с ВИЧ-инфицированным партнером. Оба образца составили единый кластер с аналогичными рекомбинантными вирусами, выделенными в Калининграде в 1997 году, Литве и Белоруссии в 2000 году.

В образце 507 (GenBank № KY514097), полученном от ВИЧ-инфицированного пациента из Сахалинской области, в результате предварительного субтипирования обнаружена рекомбинантная форма 11_srx. Варианты srx представляют собой рекомбинантные формы, полученные из генов трех субтипов. Так, CRF11_srx включает подтипы A, G, J, CRF01_AE и встречается в странах Центральной Африки. Данная рекомбинантная форма была впервые описана в 2000 году [14]. В результате филогенетического анализа полученная нуклеотидная последовательность образовала единый кластер с вариантами, выделенными в Сенегале в 1998 году, Чаде – в 2006 году, Камеруне – в 2008 году, что может свидетельствовать о завозном характере заболевания.

В последние годы особый интерес представляет рекомбинантная форма A/G. По результатам предварительного субтипирования 39 образцов из ДФО были определены как рекомбинантная форма вируса подтипа A/G - CRF02_AG. Для всех проб проведен филогенетический анализ нуклеотидных последовательностей области гена *pol* (рис. 3). Генетические варианты ВИЧ-1 распределились на филограмме на две группы. В первую группу вошли 6 изолятов, выделенных от пациентов, проживающих на территории Хабаровского края и впервые зарегистрированных в 2015-2016 гг. (501, 17001, 17101, 801, 13301, 13601), а также по 1 пробе из Республики Саха (Якутия) (2805) и Сахалинской области (25107). Штаммы первой группы оказались наиболее близкими к генетическим вариантам CRF02_AG ВИЧ-1, выделенным ранее в Новосибирской области (2010, 2011 гг.), Республике Калмыкии, Узбекистане (2013, 2015 гг.) и Казахстане (2012 г.).

Все образцы второй группы разделились на 2 кластера. Первый кластер был сформирован 20 нуклеотидными последовательностями из Еврейской Автономной области и 1 образцом из приграничной с ней территории Амурской области, что указывает на тенденцию к кластеризации ВИЧ по географическому признаку. Второй кластер был также образован вариантами из территориально связанных субъектов ДФО – Республики Саха (Якутия) (15305, 3405, 7505), Амурской (14102), Еврейской Автономной (29003) и Магаданской (5304) областями. Однако штаммы второго кластера сформировали общую ветвь с последовательностями циркулирующей рекомбинантной формы ВИЧ-1 CRF63_02A1, выделенной в Новосибирской и Кемеровской областях в 2010-2011 гг. и Хабаровском крае в 2012 году.

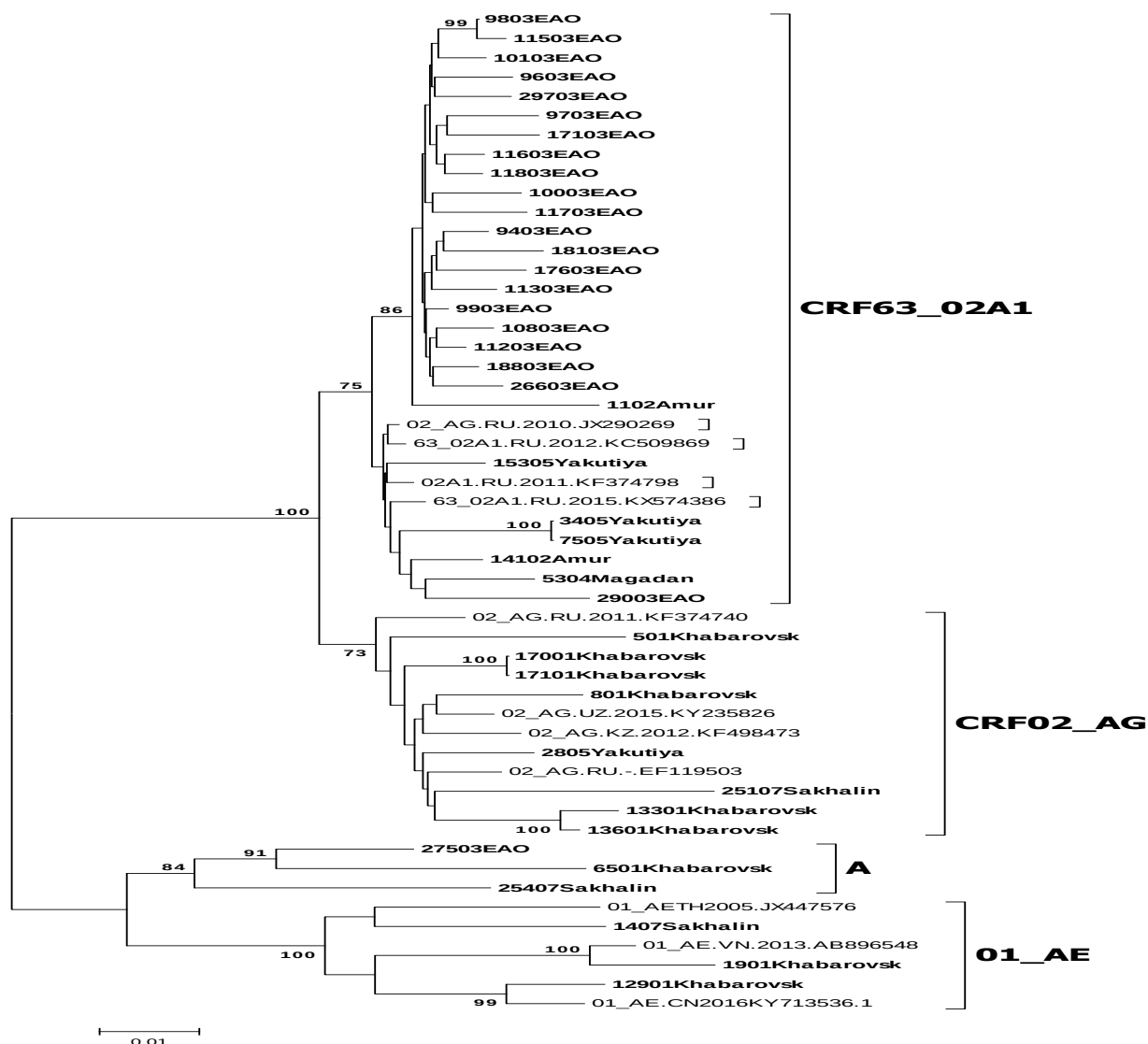


Рис. 3. Результат филогенетического анализа нуклеотидных последовательностей области гена *pol* генетических вариантов субтипов CRF63_02A1, CRF02_AG, 01_AE ВИЧ-1, выделенных от пациентов, проживающих на территории ДФО

Следует отметить, что генетический вариант CRF63_02A1 впервые был выявлен в 2008 году в Новосибирске и представляет собой продукт рекомбинации субтипа A и CRF02_AG ВИЧ-1, распространенный на территориях азиатской части России и странах центральной Азии. Полученный результат позволяет сделать вывод о возможности завоза в ДФО геноварианта CRF63_02A1 с территории Сибирского федерального округа, а выявленная нами кластеризация этих штаммов ВИЧ-1 по географическому признаку может указывать на возможные эпидемиологические связи между случаями ВИЧ-инфекции соседних регионов ДФО.

Проведенный в ДФО филогенетический анализ подтвердил принадлежность трех образцов к форме CRF01_AE, которые сформировали единый кластер с референс-штаммами (рис. 3). Так, образец 1901 из Хабаровского края с высокой достоверностью сформировал общую ветвь с образцом из Вьетнама (AB896548), образец 12901, выделенный от ВИЧ-инфицированного мужчины из г. Комсомольска-на-Амуре Хабаровского края, был родственен образцу из Китая (KY713536.1), а проба 1407 из Сахалинской области оказалась наиболее близка варианту вируса из Таиланда (JX.447576). Формирование единых ветвей на филогенетическом дереве позволяет судить о возможности завоза этой рекомбинантной формы в Хабаровский край и Сахалинскую область из стран Азиатско-Тихоокеанского региона.

Среди субъектов ДФО особый интерес представляет Еврейская автономная область (ЕАО), которая относится к территориям с низкой пораженностью населения ВИЧ-инфекцией (показатель 2018 г. составил 114,2 на 100 тыс. населения ЕАО против 594,3 на 100 тыс. населения России). Первый случай инфицирования здесь был зарегистрирован в 1999 году. В последние годы в ЕАО, как и в целом

по РФ, наблюдается рост новых случаев ВИЧ-инфекции. На 01.01.2019 г. в ЕАО кумулятивно зарегистрировано 297 случаев ВИЧ-инфекции. Необходимо отметить, что распространенность ВИЧ-инфекции на административных образованиях ЕАО носит неоднородный характер. Наиболее неблагополучной является территория Облученского района, где инфекция преобладает преимущественно в среде потребителей инъекционных наркотиков. Так, в 2017 году, например, показатель пораженности ВИЧ-инфекцией населения Облученского района составил 380,53 на 100 тыс. населения, что в 3,2 раза выше, чем в среднем по ЕАО, и в 1,2 раза больше, чем в целом по ДФО.

Доля ВИЧ-инфицированных пациентов ЕАО, охваченных данным исследованием, составила 18,9% (56 из 297). В ходе проведенного исследования установлено, что на территории Еврейской автономной области в геномном пейзаже ВИЧ-1 отмечается незначительное преобладание рекомбинантной формы ВИЧ-1 CRF63_02A1, которая была обнаружена у 25 пациентов (44,6%). Суб-субтип A6 выявлен у 23 человек (41,1%). В 6 случаях был обнаружен субтип В (10,7%), в 2 (3,6%) – субтип С.

Распределение генетических вариантов ВИЧ-1 в ЕАО по предполагаемым путям заражения показало, что рекомбинантная форма CRF63_02A1 в 1,8 раза чаще выявлялась в группе потребителей инъекционных наркотиков (ПИН), в то время как вариант вируса суб-субтип A6 преобладал преимущественно среди лиц, заразившихся гетеросексуальным путем (табл. 2). Варианты ВИЧ-1 субтипов В и С встречались только у пациентов, заразившихся в результате гетеросексуальных контактов. Из всей анализируемой в ЕАО группы ВИЧ-инфицированных лиц (56) 7 человек предположительно заразились за пределами Еврейской автономной области (Хабаровский и Приморский края, г. Санкт-Петербург).

Филогенетический анализ, проведенный для 25 образцов из ЕАО, отнесенных по результатам предварительного генотипирования к рекомбинантной форме CRF63_02A1, показал, что все пробы кластеризовались с рекомбинантными штаммами из других регионов РФ, в т.ч. с двумя нуклеотидными последовательностями вирусных штаммов из рабочей коллекции лаборатории Дальневосточного окружного центра по профилактике и борьбе со СПИД ФБУН Хабаровский НИИ эпидемиологии и микробиологии Роспотребнадзора (1102, 14102), полученными в 2015 и 2016 гг. из образцов плазмы крови ВИЧ-инфицированных пациентов Амурской области, граничащей с ЕАО, но при этом образовали единый кластер с уровнем bootstrap-поддержки 83% (рис. 4).

Таблица 2

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

Пути (способы) заражения	Генетические варианты ВИЧ-1				Всего
	CRF63-02A1	Суб-субтип A6	В	С	
Употребление инъекционных наркотиков	16	4	0	0	20
Гетеросексуальные контакты	9	19	6	2	36
ВСЕГО	25	23	6	2	56

Установленный факт может свидетельствовать о едином источнике заражения для пациентов ЕАО и Амурской области, однако для его подтверждения необходимо проведение более глубокого дополнительного эпидемиологического расследования.

Анализ данных первичного эпидемиологического расследования показал, что 18 из 25 обследованных пациентов ЕАО были предположительно инфицированы в период с 2007 по 2015 гг. на территории Облученского района ЕАО, наиболее близко расположенного к Амурской области, что свидетельствует о длительной циркуляции этого рекомбинантного варианта в ЕАО. Один пациент предположительно заразился на территории Хабаровского края. Единичные случаи инфицирования были зафиксированы и в других административных образованиях ЕАО: г. Биробиджане и Биробиджанском районе, в Сидовичском и Октябрьском районах области. Следовательно, причиной столь широкого распространения рекомбинантной формы CRF63_02A1 ВИЧ-1 на территории ЕАО может быть занос этого геноварианта из других регионов РФ и дальнейшее распространение его в среде потребителей инъекционных наркотиков и их половых партнеров. Для получения полной картины циркуляции генетических вариантов ВИЧ-1 на территории ЕАО необходимо проведение дальнейших молекулярно-эпидемиологических исследований, особенно среди вновь выявляемых случаев ВИЧ-инфекции, с обязательным анализом нуклеотидных последовательностей других областей генома ВИЧ.