

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2019

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

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ВАРИАНТОВ ВИЧ-1, ВЫДЕЛЕННЫХ В СУБЪЕКТАХ ДАЛЬНЕВОСТОЧНОГО ФЕДЕРАЛЬНОГО ОКРУГА

ФБУН «Хабаровский НИИ эпидемиологии и микробиологии» Роспотребнадзора, 680610, г. Хабаровск, Россия

Введение. Молекулярно-генетический мониторинг, включающий слежение за циркуляцией резистентных форм вируса иммунодефицита человека (ВИЧ) и анализ территориальной специфики распространения различных геновариантов вируса, является важной частью системы эпидемиологического надзора за распространением ВИЧ-инфекции. **Цель исследования** – проанализировать распространённость вариантов ВИЧ-1 Среди ВИЧ-инфицированных пациентов, проживающих на территориях Дальневосточного федерального округа (ДФО). **Материал и методы.** Молекулярно-генетическим анализом фрагмента области гена *pol*, кодирующей Протеазу и часть обратной транскриптазы, охвачено 206 образцов плазмы крови от ВИЧ-инфицированных пациентов, проживающих на территории Сахалинской, Магаданской, Амурской, Еврейской автономной областей, Хабаровского края, Республики Саха (Якутия) и Чукотского автономного округа, входящих в ДФО. **Результаты.** Установлено, что в большинстве регионов доминирует ВИЧ-1 суб-субтипа А6, на долю которого пришлось $72,1 \pm 3,1\%$. В 14 ($6,8 \pm 1,8\%$) случаях был выявлен субтип В и у 4 ($1,9 \pm 1,0\%$) пациентов субтип С. На отдельных территориях обнаружены рекомбинантные формы ВИЧ-1 и определён их спектр. Выявлено 5 типов циркулирующих рекомбинантных форм ВИЧ-1: CRF03_AB – 2 ($0,9 \pm 0,7\%$), CRF02_AG – 8 ($3,9 \pm 1,3\%$), CRF63_02A1 – 27 ($13,1 \pm 2,4\%$), CRF11_cpx – 1 ($0,5 \pm 0,5\%$), CRF01_AE – 3 ($1,5 \pm 0,8\%$). Высокая гетерогенность вируса отмечена в Еврейской автономной области. **Обсуждение.** Проведённые исследования выявили генетические различия в пейзаже циркулирующих субтипов ВИЧ-1 и частоте распространения рекомбинантных форм ВИЧ-1. Вероятно, это объясняется увеличением миграционных потоков, которые могут способствовать трансграничному завозу и дальнейшему распространению различных генетических вариантов ВИЧ-1 среди населения ДФО. **Заключение.** Проведённые исследования показали, что молекулярно-генетический мониторинг циркуляции геновариантов ВИЧ-1 должен охватывать не только неблагополучные по ВИЧ-инфекции территории РФ, но и регионы с низкими показателями заболеваемости и поражённости населения.

Ключевые слова: ВИЧ-1; рекомбинантные формы; субтипы; филогенетический анализ.

Для цитирования: Котова В.О., Троценко О.Е., Балахонцева Л.А., Базыкина Е.А. Молекулярно-генетическая характеристика вариантов ВИЧ-1, выделенных в субъектах Дальневосточного федерального округа. *Вопросы вирусологии*. 2019; 64(2): 79-89.

DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0507-4088-2019-64-2-79-89>

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

MOLECULAR GENETIC CHARACTERISTICS OF HIV-1 VARIANTS ISOLATED IN THE SUBJECTS OF THE RUSSIAN FAR EAST

Khabarovsk Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Khabarovsk, 680610, Russian Federation

Introduction. Molecular-genetic monitoring of human immunodeficiency virus (HIV) drug-resistant strains circulation as well as analysis of territorial peculiarities of different genetic variants prevalence of the virus is a crucial part of epidemiological surveillance over HIV-infection spread. Objective of the research – to analyze the prevalence of HIV-1 genetic variants among HIV-positive people living in different constituent entities of the Far Eastern Federal District. **Material and methods.** Molecular-genetic analysis of the *Pol*-gene that is coding protease and a part of reverse transcriptase of HIV-1 was performed for a total number of 206 blood plasma samples. The biological material was collected from HIV-positive people living in Sakhalin, Magadan and Amur regions, Jewish Autonomous District, Khabarovsk region, Republic of Sakha (Yakutia) and Chukotka Autonomous Region (constituent entities of the Russian Federation in the Russian Far East). **Results.** The research demonstrated that HIV-1 sub-subtype A6 continues to be dominant and comprises $72.1 \pm 3.1\%$ of all isolated subtypes in the regions of the Russian Far East. HIV-1 subtype B was identified in 14 cases ($6.8 \pm 1.8\%$) and subtype C in 4 cases ($1.9 \pm 1.0\%$). Spectrum of HIV-1 recombinant forms was determined for some regions. We identified five types of HIV-1 circulating recombinant forms (CRF): CRF03_AB – 2 ($0.9 \pm 0.7\%$), CRF02_AG – 8 ($3.9 \pm 1.3\%$), CRF63_02A1 – 27 ($13.1 \pm 2.4\%$), CRF11_cpx – 1 ($0.5 \pm 0.5\%$), CRF01_AE – 3 ($1.5 \pm 0.8\%$). High heterogeneity of the virus was registered in the Jewish Autonomous District. **Discussion.** The conducted research revealed genetic differences in the landscape of HIV-1 subtypes circulation as well as differences in HIV-1 recombinant forms distribution frequency in the Russian Far East. Current findings are due to expansion of migration flows that promote cross-border importation and further spread of different HIV-1 genetic variants among population of the Far Eastern Federal District. **Conclusion.** The conducted research revealed that the molecular-genetic monitoring of HIV-1 genovariants should involve not only regions with high HIV-abundance but also with low HIV-prevalence and incidence.

Keywords: HIV-1, recombinant forms, subtypes, phylogenetic analysis.

For citation: Kotova V.O., Trotsenko O.E., Balakhontseva L.A., Bazykina E.A. Molecular genetic characteristics of HIV-1 variants isolated in the subjects of the Russian Far East. *Voprosy Virusologii (Problems of Virology, Russian journal)*. 2019; 64(2):79-89. (In Russ.). DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0507-4088-2019-64-2-79-89>

Для корреспонденции: Котова Валерия Олеговна, зав. лабораторией эпидемиологии и профилактики вирусных гепатитов и СПИДа ФБУН "Хабаровский НИИ эпидемиологии и микробиологии" Роспотребнадзора, 680610, г.Хабаровск. E-mail: kotova.valeriya@mail.ru; dvaid@mail.ru

For correspondence. Valeriya O. Kotova, Head of the Laboratory of Epidemiology and Prevention of Viral Hepatitis and AIDS of Khabarovsk Research Institute of Epidemiology and Microbiology. Khabarovsk, 680610, Russian Federation. E-mail: kotova.valeriya@mail.ru; dvaids@mail.ru

Information about authors:

Kotova V.O., <http://orcid.org/0000-0001-9824-7025>

Trotsenko O.E., <http://orcid.org/0000-0003-3050-4472>

Acknowledgments. The authors are grateful researchers from Regional Center for Prevention and Control of AIDS and Infectious Diseases in the Far Eastern Federal District: in the Magadan, Jewish Autonomous, Sakhalin, Amur regions, the Republic of Sakha (Yakutia), the Chukotka Autonomous Okrug, the Khabarovsk Territory for the information provided and biological material. The study had no sponsorship.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Received 07 June 2018

Accepted 19 June 2018

ВИЧ-инфекция является одной из значимых проблем здравоохранения во всём мире. В Дальневосточном федеральном округе (ДФО), как и в целом по стране, с каждым годом увеличивается число людей, инфицированных ВИЧ. На 31.12.2016 общее число ВИЧ-инфицированных в округе достигло 22 873. Эпидемический процесс ВИЧ-инфекции в ДФО характеризуется ежегодным приростом числа новых случаев. Так, среди граждан РФ в округе в 2016 г. зарегистрирован 2241 новый случай ВИЧ-инфекции, что на 67 больше, чем в 2015 г. Темпы прироста ежегодно составляют $10,3 \pm 0,26\%$ [1]. Показатель поражённости населения ВИЧ-инфекцией в 2017 г. составил 299,6 случая на 100 тыс. населения (267,6 в 2015 г.), что в 2,2 раза ниже общероссийского уровня (594,3). Распространение ВИЧ-инфекции на территориях ДФО неравномерное. Так, до 2017 г. включительно по показателю поражённости лидировал Приморский край (506,2 на 100 тыс. населения). Наименьшие показатели зарегистрированы в 2017 г. в Амурской области (65,48), Еврейской автономной области (ЕАО, 118,2), Республике Саха (Якутия) (96,7).

Эпидемиологические особенности возникновения и распространения ВИЧ-инфекции в ДФО обусловлены географическим положением и специфической демографической ситуацией. Постоянные изменения в численности населения округа находятся под воздействием двух основных факторов: естественной убыли и миграции, как внутренней, так и международной. Количество иностранных граждан, въезжающих на административные территории округа по рабочим визам из стран ближнего и дальнего зарубежья, постоянно увеличивается.

В последние годы в лабораторную диагностику ВИЧ-инфекции широко внедряются современные молекулярно-генетические методы исследования (генотипирование, филогенетический анализ). Эти технологии позволяют изучать генетическое разнообразие ВИЧ, а также проводить анализ мутаций, приводящих к формированию резистентности ВИЧ к антиретровирусным препаратам (АРВП). Благодаря изучению генетических характеристик ВИЧ-1 стало возможным проведение эпидемиологических исследований случаев ВИЧ-инфекции, в том числе в эпидемических очагах с вероятной внутрибольничной передачей вируса.

В настоящее время молекулярная структура и гете-

рогенность ВИЧ-1 являются предметом углублённого изучения многочисленных исследований в мире.

На основании анализа нуклеотидных последовательностей геномов ВИЧ-1 все известные варианты вируса подразделяют на 3 филогенетические группы: M, N и O. Недавно была обнаружена ещё одна филогенетическая группа вируса (P), имеющая происхождение от гориллы [2]. В группе M, которая включает наиболее распространённые варианты вируса, сформировались филогенетические кластеры, представленные субтипами, обозначаемыми буквами от A до K и циркулирующими рекомбинантными формами (circulating recombinant forms, CRFs), которые произошли в результате рекомбинации вирусов разных подтипов [2–4]. Первые рекомбинантные формы вируса были описаны в Таиланде и Центральной Африке. Кроме того, существует множество уникальных рекомбинантных форм (unique recombinant form, URF), которые не отвечают требованиям включения в CRF (известная последовательность, наличие трёх не связанных между собой случаев инфицирования) [5].

Внутри подтипов A и F выделяются дополнительные суб-субтипы, обозначаемые, как A1-A4 и A6, а также F1 и F2 [6–9]. По нуклеотидному составу между собой суб-субтипы различаются на 25–30% для гена *env*, на 20% для *gag* и на 10% для *pol* [10, 11].

Распределение различных субтипов и вариантов вируса в мире неоднородно. Практически все подтипы ВИЧ-1, а также ВИЧ-2 можно обнаружить в странах Центральной и Западной Африки. Субтип C в наибольшей степени распространён в странах Юго-Восточной Азии. В Северной и Южной Америке, Западной Европе, Австралии, Юго-Восточной Азии и Японии чаще встречается вирус субтипа B [12, 13]. Наиболее распространёнными рекомбинантными формами в мире являются CRF01_AE и CRF02_AG, которые встречаются главным образом в странах Африки и Юго-Восточной Азии [14].

Молекулярно-генетический мониторинг, который проводится на территории РФ, начиная с первого случая ВИЧ-инфекции в 1987 г., показал, что в России циркулирует более 10 генетических вариантов ВИЧ-1 [15, 16]. Наиболее распространён генетический вариант IDU-A (injecting drug use - A), впервые обнаруженный в группе потребителей инъекционных наркотиков (ПИН) и позднее классифицированный как суб-субтип A6. В настоящее время он доминирует на

большинстве территорий РФ [17]. 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 [18–20].

Исследования, проводимые с целью изучения генетических вариантов, циркулирующих на территории Дальнего Востока, носят эпизодический характер. Так, молекулярно-генетический анализ, проведённый в 2004–2005 гг. группой исследователей на территории Хабаровского края и Сахалинской области, показал, что на тот период времени в Хабаровском крае доминировал генетический вариант ВИЧ-1 IDU-A. В Сахалинской области была обнаружена более высокая гетерогенность ВИЧ-1. Наряду с подтипом А здесь была отмечена циркуляция подтипов В, D и рекомбинантной формы CRF01_AE [21]. В 2013 г. на территории Сахалинской области были выявлены варианты вируса подтипа G и рекомбинантная форма CRF63_02A1, а также две уникальные рекомбинантные формы URF02_AG и впервые в России был обнаружен рекомбинант CRF11_srx [22]. В Республике Саха (Якутия), кроме доминирующего варианта IDU-A, в 2007 г. выявлен подтип IDU-B-East у пациента, заразившегося гетеросексуальным путём, что свидетельствует о выходе данного штамма за пределы группы риска ПИН [23].

Исследования, проведённые в 2012–2013 гг. на территории Хабаровского, Приморского краёв и Амурской области, показали изменения в профиле циркулирующих генетических вариантов ВИЧ-1. Так, в Хабаровском крае наряду с вариантом ВИЧ-1 IDU-A были обнаружены варианты вируса подтипов В, С, рекомбинантные формы CRF02_AG и CRF63_02A1 [24]. На территории Приморского края, где отмечается наиболее высокий в ДФО уровень заболеваемости ВИЧ-инфекцией, установлено явное преобладание восточноевропейского варианта вируса подтипа В [25].

Изучение генетических характеристик ВИЧ-1 как постоянно циркулирующих, так и появляющихся

новых вариантов на территории РФ представляется крайне актуальным в связи с тем, что генетические варианты вируса могут различаться по своим биологическим свойствам, по скорости эволюции вируса и прогрессирования заболевания.

Таким образом, в настоящее время молекулярно-эпидемиологический мониторинг, включающий как слежение за формированием и циркуляцией резистентных форм ВИЧ, так и анализ территориальной специфики распространения различных генетических вариантов вируса (в том числе новых рекомбинантных форм) в конкретных очагах, группах риска и т.д., является важной составной частью системы эпидемиологического надзора за распространением ВИЧ-инфекции.

Цель исследования: на основании изучения нуклеотидных последовательностей фрагментов гена *pol* провести анализ распространённости генетических вариантов ВИЧ-1 среди ВИЧ-инфицированных пациентов, проживающих на территории ДФО, включая регионы с низким показателем поражённости.

Материал и методы

Молекулярно-генетическим анализом охвачено 206 образцов плазмы крови от ВИЧ-инфицированных пациентов, проживающих на территории ДФО: в Хабаровском крае – 53 (25,7%), в ЕАО – 51 (24,8%), Республике Саха (Якутия) – 35 (16,9%), Магаданской области – 14 (6,8%), Амурской области – 11 (5,3%), Сахалинской области – 38 (18,4%) и в Чукотском автономном округе – 4 (1,9%). Все пациенты были зарегистрированы в региональных Центрах по профилактике и борьбе со СПИД с диагнозом «ВИЧ-инфекция» с 2013 по 2016 г. Получены информированные согласия всех пациентов на участие в исследовании и одобрение Комитета по этике ФБУН Хабаровский НИИ эпидемиологии и микробиологии Роспотребнадзора (протокол № 1 от 18.03.2015). Сбор образцов крови осуществляли на базе территориальных центров по профилактике и борьбе со СПИД субъектов ДФО. Средний возраст пациентов составил $39 \pm 3,8$ года. Среди обследованных было 123 (59,7%) мужчины и

Таблица 1

Территориальное распределение охваченных наблюдением ВИЧ-инфицированных пациентов в Дальневосточном федеральном округе по предполагаемым способам (путям) заражения

Территория	Предполагаемый способ (путь) заражения							Итого...
	Употребление инъекционных наркотиков	Гетеросексуальные контакты	Гомосексуальные контакты	Вертикальная передача	Переливание инфицированной крови	Прочие	Путь заражения не установлен	
Хабаровский край	6	38	6	0	0	0	3	53
Еврейская автономная область	17	34	0	0	0	0	0	51
Сахалинская область	8	27	1	1	0	0	1	38
Республика Саха (Якутия)	12	20	0	2	0	1	0	35
Магаданская область	8	6	0	0	0	0	0	14
Амурская область	3	6	1	0	1	0	0	11
Чукотский автономный округ	0	4	0	0	0	0	0	4
Всего...	54	135	8	3	1	1	4	206

83 (40,3%) женщины. На момент забора крови 85 пациентов находились на лечении АРВП, 1 пациент прервал терапию, 120 пациентам АРВП не назначали.

Распределение ВИЧ-инфицированных пациентов, охваченных наблюдением по предполагаемым способам (путям) заражения, представлено в табл. 1.

РНК ВИЧ-1 выделяли с использованием коммерческого набора «РИБО-золь-Е» (ФБУН «Центральный НИИ эпидемиологии» Роспотребнадзора, Москва). Нуклеотидные последовательности генома ВИЧ-1 выявляли методом секвенирования амплифицированных фрагментов области 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 проводили с использованием набора реагентов «BigDye Terminator™ v 3.1» на генетическом анализаторе Applied Biosystems 3500 Genetic Analyzer (Life Technologies, США). Для сборки нуклеотидных последовательностей применяли специальное программное обеспечение «ДЕОНА» (ООО «МедАйТи Групп», Россия). Для выравнивания полученных нуклеотидных последовательностей использовали программу BioEdit v.7.1.9.

Для идентификации близкородственных штаммов ВИЧ-1 полученные нуклеотидные последовательности анализировали 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 Стэнфордского университета (<http://hivdb.stanford.edu>), а также программы COMET HIV-1/2 () [26]. Филогенетический анализ выполняли с помощью программы MEGA 6.0, путём построения филогенетических деревьев методом ближайших соседей. Генетические дистанции между нуклеотидными последовательностями рассчитывали по двухпараметрическому методу Kimura. Для оценки достоверности филогенетических связей использовали бутстрэп-

анализ (bootstrap) для 500 независимых построений каждого филогенетического дерева [27].

Следует отметить, что при проведении филогенетического анализа не были исключены образцы с мутациями лекарственной устойчивости (ЛУ), так как их присутствие не привело к существенной деформации филогенетических деревьев.

Для получения информации о мутациях ЛУ использовали базу данных Стэнфордского университета HIVdb Program (<https://hivdb.stanford.edu/>).

Статистическую обработку полученных результатов проводили с использованием пакета прикладных программ Microsoft Excel 2010. Ошибку репрезентативности определяли по формуле:

$$m_p = \sqrt{\frac{Pq}{n}}$$

Результаты

В результате исследований 206 полученных нуклеотидных последовательностей были подвергнуты предварительному анализу для определения генетического варианта ВИЧ-1 с помощью онлайн-программ REGA HIV-1 Subtyping Tool (версия 3 и COMET HIV-1. Результаты этого анализа представлены в табл. 2.

Установлено, что среди ВИЧ-инфицированных, постоянно проживающих на территории ДФО, продолжает доминировать суб-субтип А6, который выявлен в 147 (72,1 ± 3,1%) случаях. У 14 (6,8 ± 1,8%) человек был определён субтип В, у 4 (1,9 ± 1,0%) – субтип С, у 3 (1,5 ± 0,8%) – рекомбинантная форма CRF01_AE, в 2 (0,9 ± 0,7%) случаях выявлена рекомбинантная форма CRF03_AB и 1 (0,5 ± 0,5%) образец был определён как рекомбинантная форма CRF11_crx (Сахалинская область).

Необходимо отметить, что в 35 (16,9 ± 2,6%) 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 Ал-

Таблица 2

Распространённость геновариантов ВИЧ-1 на территории Дальневосточного федерального округа*

Территория	Количество образцов	Субтип А	Субтип В	Субтип С	CRF02_AG	CRF01_AE	CRF03_AB	CRF11_crx
Хабаровский край	53	41	4	0	6	2	0	0
Еврейская автономная область	51	22	6	2	21	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
Чукотский автономный округ	4	4	0	0	0	0	0	0
Всего...	206	147 (72,1%)	14 (6,8%)	4 (1,9%)	35 (16,9%)	3 (1,5%)	2 (0,9%)	1 (0,5%)

* По результатам генотипирования с использованием программы REGA HIV-1 Subtyping Tool (версия 3).

Таблица 3

Распределение генетических вариантов ВИЧ-1 в Дальневосточном федеральном округе по предполагаемым путям (способам) заражения*

Путь (способ) заражения	Генетический вариант ВИЧ-1							Итого...
	A6	B	C	CRF02-AG	CRF03_AB	CRF01_AE	CRF11_cpx	
Употребление инъекционных наркотиков	35	0	0	17	1	1	0	54
Гетеросексуальные контакты	101	12	4	15	1	1	1	135
Гомосексуальные контакты	4	1	0	2	0	1	0	8
Вертикальная передача	2	0	0	0	0	0	0	2
Переливание инфицированной крови	1	0	0	0	0	0	0	1
Прочие	2	0	0	0	0	0	0	2
Путь заражения не установлен	2	1	0	1	0	0	0	4
Всего...	147	14	4	35	2	3	1	206

* По результатам генотипирования с использованием программы REGA HIV-1 Subtyping Tool (версия 3).

тайском крае и в Новосибирской области [28].

При дополнительном анализе этих образцов с помощью программы COMET HIV-1 32 из 35 проб были отнесены к рекомбинантной форме CRF63_02A1, и в 3 случаях получен неопределённый результат.

С целью выявления возможной связи проведен сопоставительный анализ распределения геновариантов ВИЧ-1 в ДФО и предполагаемых путей инфицирования пациентов, охваченных данным обследованием.

Как следует из данных, представленных в табл. 3, у подавляющего большинства ($68,7 \pm 3,8\%$) пациентов с суб-субтипом A6 ВИЧ-1 при эпидемиологическом расследовании установлено заражение в результате гетеросексуальных контактов, удельный вес инфицирования при употреблении инъекционных наркотических препаратов оказался менее значимым ($23,8 \pm 3,5\%$), а доля возможного заражения при гомосексуальных контактах у лиц с суб-субтипом A6 составила всего $2,7 \pm 1,3\%$. В структуре предполагаемых путей (способов) распространения субтипа B ВИЧ-1 отмечена ведущая роль гетеросексуальных контактов (12 из 14 проб), а для пациентов с рекомбинантной формой CRF02-AG частота случаев инфицирования путём гетеросексуальных контактов и при употреблении инъекционных наркотиков оказалась примерно одинаковой (соответственно 15 и 17 из 35 проб).

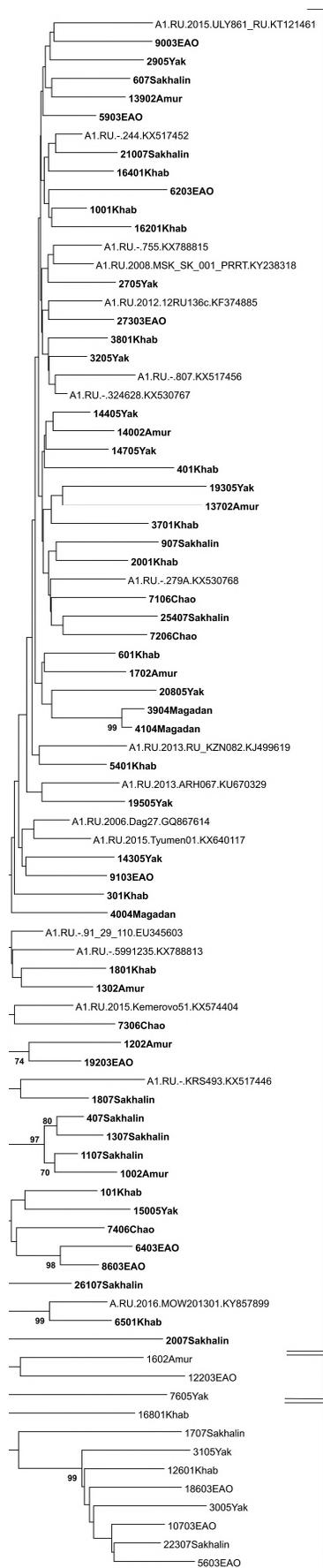
Для подтверждения результатов генотипирования, а также выяснения происхождения и возможного родства вариантов ВИЧ, циркулирующих на территориях ДФО, был проведен филогенетический анализ 206 нуклеотидных последовательностей области гена *pol*, кодирующей протеазу и обратную транскриптазу. Для подбора образцов последовательностей ВИЧ-1 в качестве групп сравнения использовали базу данных Лос-Аламосской национальной лаборатории, США (<http://hiv.lanl.gov>). Последовательности пациентов, получающих АРВП были включены в окончательный филогенетический анализ, поскольку предварительный анализ указывал на отсутствие искажения филогенетического дерева при объединении этих образцов с полученными от «наивных» пациентов.

Филогенетический анализ произвольно выбранных образцов, отнесенных по результатам генотипирования к суб-субтипу A6, показал, что все нуклеотидные последовательности из анализируемых регионов кла-

стеризуются на одной ветви филогенетического дерева с ранее полученными последовательностями той же области вариантов IDU-A, выделенных в разных регионах РФ (рис. 1). Для популяции ВИЧ-1 субтипа IDU-A, циркулирующей на изучаемых территориях ДФО, характерна высокая генетическая гомогенность и отсутствие выраженной кластеризации по каким-либо признакам.

Филогенетический анализ 14 образцов ВИЧ-1 субтипа B показал, что исследуемые варианты ВИЧ-1, выделенные от пациентов, проживающих на территории 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 12 последовательностями ВИЧ-1 от пациентов, заражённых в результате гетеросексуальных контактов. Шесть из них проживали 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). Данная группа ВИЧ-1 оказалась наиболее близка к штаммам ВИЧ-1, которые уже были описаны в 2012 г. группой исследователей на некоторых территориях ДФО (в Приморском и Хабаровском краях, в Амурской области), а также с образцами, выделенными в 2009 г. в Армении (GenBank KF720955) и в 2002 г. на Украине (GenBank DQ055294) [24, 25, 29, 30]. Два образца ВИЧ-1 (16801 1707) от ВИЧ-инфицированных мужчин из Хабаровского края (Комсомольск-на-Амуре), путь заражения которых не установлен, и один образец из Сахалинской области от мужчины, инфицированного при гомосексуальном контакте, образовали самостоятельный кластер, который был наиболее близок к вариантам ВИЧ, изолированным в группе мужчин, имеющих секс с мужчинами, в 2007 и 2009 гг. в Санкт-Петербурге, в 2012 г. – в г. Ноябрьске (Ямало-Ненецкий автономный округ), в 2010 г. – в Новосибирской области, в 2007 и 2016 гг. – в Москве.

Проведен филогенетический анализ нуклеотидных последовательностей вариантов ВИЧ-1 субтипа C, выявленных в ДФО, по сравнению с последовательностями данного субтипа из разных регионов, представленных в GenBank (<http://www.hiv.lanl.gov>). Два



суб-субтип А6

C

B

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

Помимо субтипов А, В и С, на территории ДФО, в последние годы регистрируется появление циркулирующих рекомбинантных форм ВИЧ-1.

Филогенетический анализ, проведенный для 2 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 ПИН в России и Украине (рис. 2). Один вариант был выделен от пациентки, инфицированной в 1997 г. при гетеросексуальном контакте с бисексуальным партнером, не употребляющим наркотики, а второй – от пациентки, инфицированной в 2013 г. при гетеросексуальном контакте с ВИЧ-инфицированным ПИН. Оба образца составили единый кластер с аналогичными рекомбинантными вирусами, выделенными в Калининграде в 1997 г., в Литве и Белоруссии в 2000 г.

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 3 субтипов. Так, CRF11_srx включает подтипы А, G, J, CRF01_AE и встречается в странах Центральной Африки. Данная рекомбинантная форма была впервые описана в 2000 г. [31, 32]. В результате филогенетического анализа полученная нуклеотидная последовательность образовала единый кластер с вариантами, выделенными в Сенегале в 1998 г., в Чаде – в 2006 г., в Камеруне – в 2008 г., что может свидетельствовать о завозном характере заболевания.

В последние годы особый интерес представляет рекомбинантная форма А/Г. В России впервые рекомбинант А/Г обнаружен в Новосибирской области в 2006 г., в пределах СНГ – в Узбекистане в 2003 г. [28, 33].

По результатам предварительного субтипирования 35 образцов из ДФО были определены как рекомбинантная форма вируса подтипа А/Г - CRF02_AG. Для всех проб проведен филогенетический анализ нуклеотидных последовательностей области гена *pol* (рис. 3). Генетические варианты ВИЧ-1 распределились на

Рис. 1. Результат филогенетического анализа нуклеотидных последовательностей области гена *pol* генетических вариантов суб-субтипа А6 ВИЧ-1, выделенных от пациентов, проживающих на территории ДФО.

Здесь и на рис. 2 и 3: последовательности ВИЧ-1, изученные в данной работе, выделены жирным шрифтом, обозначения референс-последовательностей ВИЧ-1 соответствуют коду GenBank. Уровень бутстрэп-поддержки оценивали при числе повторов 500. Указаны значения бутстрэп-индекса, превышающие 70.

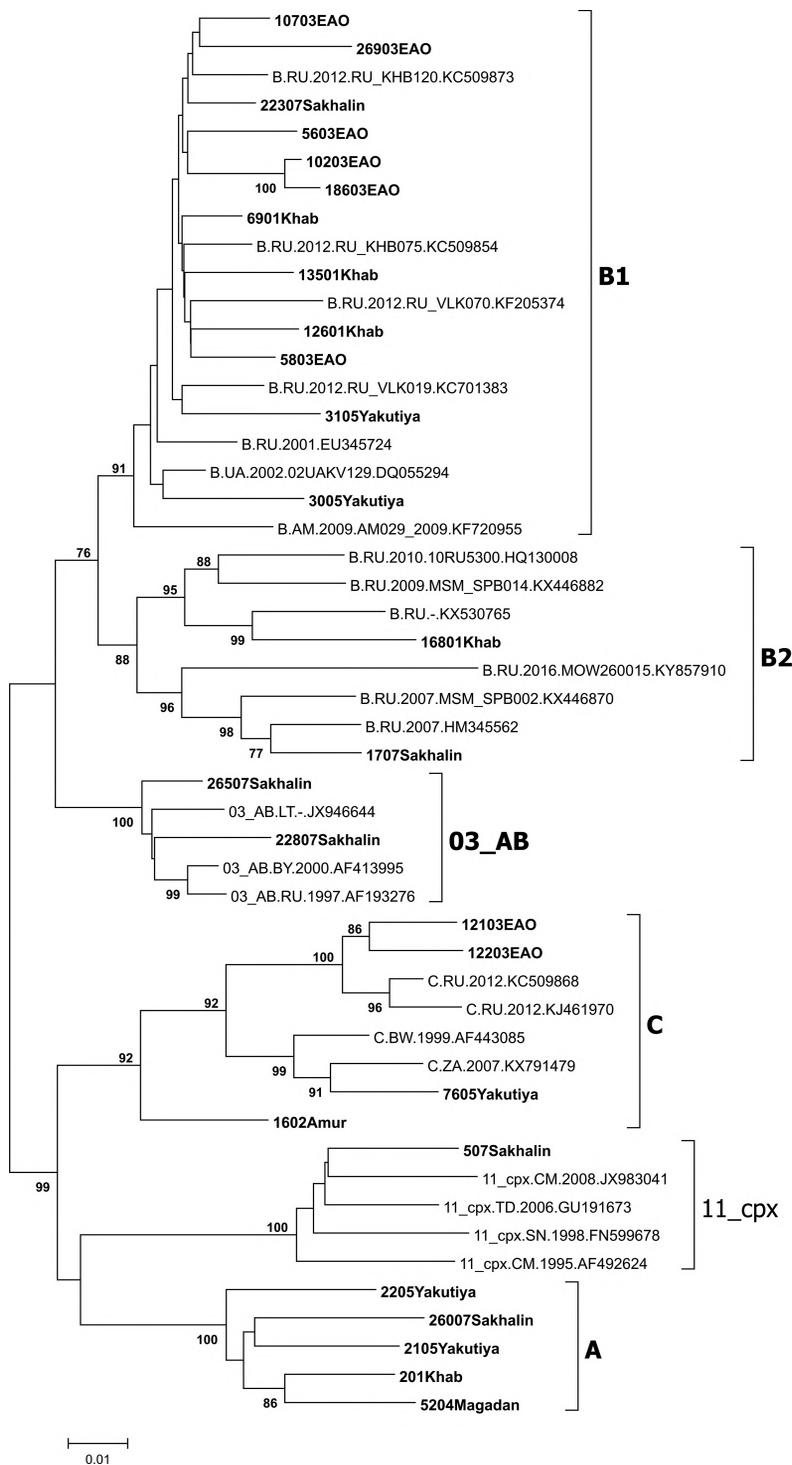


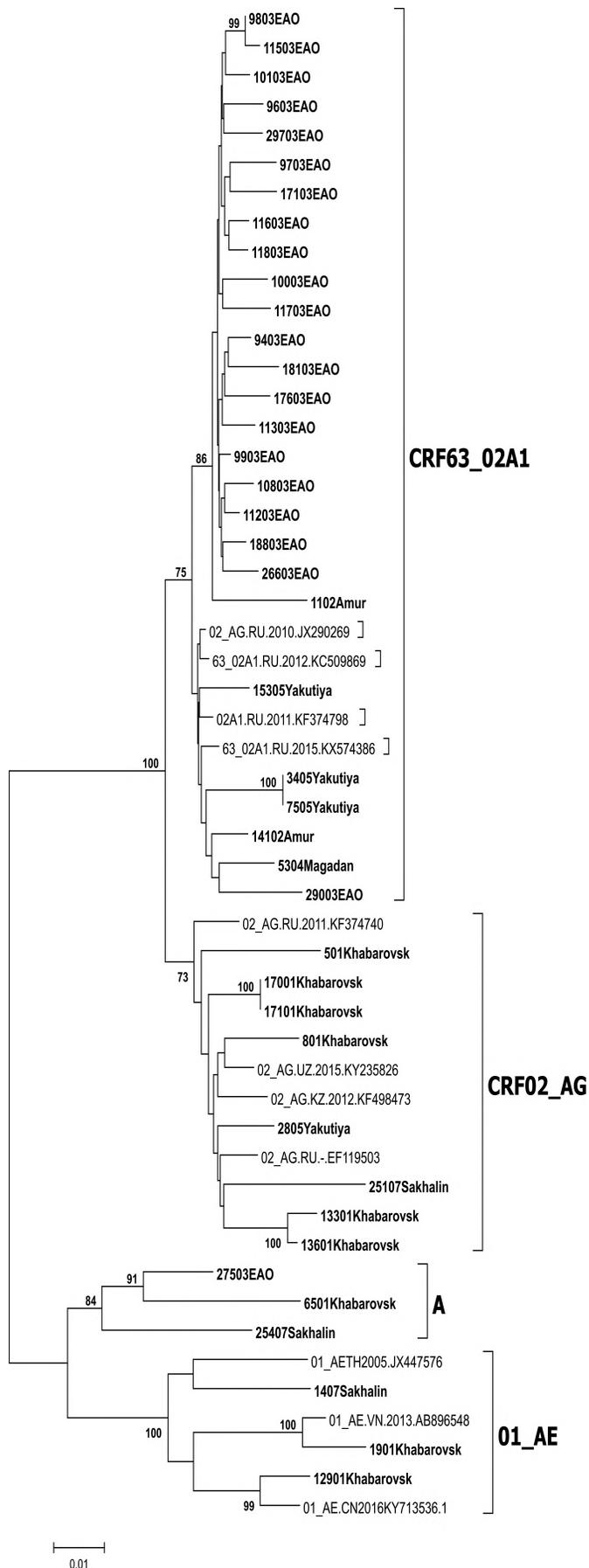
Рис. 2. Результат филогенетического анализа нуклеотидных последовательностей области гена *pol* генетических вариантов субтипов В, С, 03_AB и 11_cpx ВИЧ-1, выделенных от пациентов, проживающих на территории Дальневосточного федерального округа.

филограмме на 2 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 Калмыкия, Узбекистане (2013, 2015 гг.) и Казахстане (2012 г.). Все образцы второй группы разделились на 2 кластера. Первый кластер был сформирован 20 нуклеотидными последовательностями из ЕАО 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), Магаданской (5304) областями и ЕАО (29003). 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 г. Следует отметить, что генетический вариант CRF63_02A1 впервые был выявлен в 2008 г. в Новосибирске и представляет собой продукт рекомбинации субтипа А и CRF02_AG ВИЧ-1, распространённый на территории азиатской части России и странах центральной Азии [17, 26].

Проведённый в ДФО филогенетический анализ подтвердил принадлежность 3 образцов к форме CRF01_AE. Данная рекомбинантная форма распространена в странах Юго-Восточной Азии, но происходит из Центральной Африки [13]. Все исследуемые в ДФО варианты CRF01_AE по результатам предварительного субтипирования ВИЧ-1 сформировали единый кластер с референс-штаммами. 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 Комсомольска-на-Амуре (Хабаровский край), был родственен образцу из Китая (KY713536.1), а проба 1407 из Сахалинской области оказалась наиболее близка варианту вируса из Таиланда (JX.447576) (см. рис. 3).

Среди субъектов ДФО особый интерес представляет ЕАО, которая относится к территориям с низкой поражённостью населения ВИЧ-инфекцией: в 2017 г. этот показатель составил 118,2 на 100 тыс. населения ЕАО против 594,3 на 100 тыс. населения России. На 01.01.2018 в области зарегистрировано 257 случаев ВИЧ-инфекции. Исследованием был охвачен 51 (19,8%) ВИЧ-инфицированный пациент. Исследование 51 нуклеотидной последовательности от ВИЧ-инфицированных пациентов ЕАО выявило наибольшую частоту встречаемости рекомбинантной



формы CRF63_02A1- 41,2%. Все образцы, отнесенные к CRF63_02A1, сформировали единый кластер с высоким уровнем bootstrap-поддержки (97%), что может свидетельствовать о высокой генетической гомогенности, указывающей на существование эпидемиологической связи в анализируемой группе пациентов (рис. 4). Однако этот факт нуждается в подтверждении данными эпидемиологического расследования и планируется стать предметом последующих исследований.

В результате проведенного анализа 120 нуклеотидных последовательностей гена обратной транскриптазы и гена протеазы ВИЧ, изолированных от ВИЧ-инфицированных пациентов из Хабаровского края и ЕАО, не получавших АРВП, только в 2 ($1,7 \pm 1,2\%$) случаях была выявлена мутация K103N в гене обратной транскриптазы, которая обеспечивает резистентность высокого уровня к эфавирензу и невирапину. Остальные выявленные мутации были отнесены либо к мутациям полиморфизма, либо к вторичным, т.е. мутациям, которые могут вносить свой вклад в формирование устойчивости, но в присутствии первичных мутаций и сами по себе резистентность не вызывают. Мутация A62V, характерная для подтипа А, встречалась у 52 ($43,3 \pm 4,5\%$) пациентов этой группы.

Среди 85 обследованных пациентов, получающих АРВП, в 32 ($37,6 \pm 5,3\%$) случаях была выявлена хотя бы одна мутация резистентности к какому-либо классу препаратов. Мутации, определяющие резистентность ВИЧ к нуклеозидным ингибиторам обратной транскриптазы, обнаружены у 13 ($40,6 \pm 8,7\%$) человек, к препаратам группы ненуклеозидных ингибиторов обратной транскриптазы – у 3 ($9,4 \pm 5,2\%$) пациентов, к препаратам группы ингибиторов протеазы – у 1 ($3,1 \pm 3,1\%$) человека У 15 ($46,9 \pm 8,8\%$) пациентов выявлен штамм ВИЧ, резистентный сразу к двум классам препаратов – нуклеозидным и ненуклеозидным ингибиторам обратной транскриптазы. В 30 ($93,8 \pm 4,3\%$) случаях идентифицирована мутация M184V, которая является причиной высокого уровня резистентности к ламивудину, эмтрицитабину.

Обсуждение

Таким образом, молекулярно-генетическое исследование показало, что на большинстве анализируемых территорий ДФО в 2015–2017 гг., как в группе ПИН, так и в группе пациентов, заразившихся половым путем, доминировал генетический вариант IDU-A, на долю которого пришлось $72,1 \pm 3,1\%$. Результаты филогенетического и генотипического онлайн-анализа области гена *pol*, кодирующей протеазу и часть обратной транскриптазы ВИЧ-1, подтвердили принадлежность исследуемых образцов суб-субтипа A6 к варианту IDU_A, доминирующему в России и странах СНГ.

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 Дальневосточного федерального округа.

ратов были выявлены в 37,6% случаях.

Необходимо отметить, что для получения более полной картины принадлежности циркулирующих на территориях ДФО штаммов ВИЧ-1 к той или иной рекомбинантной форме целесообразно проведение анализа нуклеотидных последовательностей не только в области гена *pol*, который отличается высокой консервативностью, но и в других областях генома.

Заключение

Проведённые исследования показали, что молекулярно-генетический мониторинг циркуляции геновариантов ВИЧ-1 должен охватывать не только наиболее неблагополучные по ВИЧ-инфекции территории РФ, но и регионы, где фиксируются низкие показателями заболеваемости и поражённости населения.

Регулярный мониторинг циркуляции геновариантов ВИЧ-1 на территориях ДФО, особенно среди вновь выявляемых случаев ВИЧ-инфекции, позволит получить полную картину генетического ландшафта и провести анализ территориальной специфики распространения различных геновариантов ВИЧ-1, включая резистентные штаммы на территории РФ.

В GenBank были депонированы полученные нуклеотидные последовательности под номерами: KX147551-KX147557, KX147559-KX147560, MG969350-MG969353, MG969350-MG969353 (образцы из Хабаровска); KX147558, KX147561-KX147563 (образцы из Амурской области); KX147564-KX147565, MG969357-MG969379, MG969357-MG969379 (образцы из ЕАО); KY514097-KY514106 (образцы из Сахалинской области); KY514107-514110 (образцы из Чукотского автономного округа); KY514111-KY514124 (образцы из Магаданской области); MG969354-MG969356 (образцы из Республики Саха (Якутия)), MG99354-MG969356 (образцы из Республики Саха (Якутия)).

Благодарность. За предоставленные сведения и биологический материал авторы выражают благодарность сотрудникам региональных центров по профилактике и борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями в ДФО: в Магаданской, Еврейской автономной, Сахалинской, Амурской областях, Республике Саха (Якутия), Чукотском автономном округе, Хабаровском крае.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов

ЛИТЕРАТУРА (п.п. 3-10, 12, 14, 17, 18, 25, 27, 30-33 см. REFERENCES)

1. Таенкова И.О., Балахонцева Л.А., Котова В.О., Троценко О.Е. Эпидемиология и профилактика ВИЧ-инфекции в Дальневосточном федеральном округе на современном этапе. *Дальневосточный журнал инфекционной патологии*. 2017; (32): 68-72.
2. Бобкова М.Р. *Лекарственная устойчивость ВИЧ*. М.: Человек; 2014.
11. Беляков Н.А., Рахманова А.Г., ред. *Вирус иммунодефицита человека – медицина*. СПб.; 2011.
13. Шарман А. *Синдром приобретенного иммунодефицита. Эпидемиология, молекулярно-клеточные аспекты, принципы диагностики, терапии, профилактики ВИЧ-инфекции и синдрома приобретенного иммунодефицита*. Бетезда, США: NeiroNex; 2006.

15. Вазкез де Парга Е., Рахманова А.Г., Перез-Альварес Л., Виноградова А.Н., Дельгадо Е., Томсон М. и др. Анализ мутаций, связанных с лекарственной резистентностью, у нелеченных пациентов, зараженных различными генетическими формами ВИЧ 1 типа, распространенными в странах бывшего Советского Союза. *ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии*. 2009; 1(2): 50-6.
16. Дементьева Н.Е., Сизова Н.В., Лисицина З.Н., Маклакова В.А., Крутицкая Л.И., Беляков Н.А. Анализ субтипов и фармако-резистентных вариантов ВИЧ, циркулирующих среди ВИЧ-инфицированных пациентов Санкт-Петербурга. *ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии*. 2011; 3(4): 34-43.
19. Гашникова Н.М., Сафронов П.Ф., Никонова Ю.В., Унагаева Н.В., Лаптева Т.А. Свойства изолятов CRF02_AG ВИЧ-11, циркулирующих на территории Новосибирской области. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2011; (3): 38-43.
20. Богачев В.В., Тотменин А.В., Барышев П.Б., Мещерякова Ю.В., Черноусова Н.Я., Гашникова Н.М. Молекулярно-генетическая характеристика вариантов ВИЧ-1 субтипов А и В, выделенных на территории Новосибирской области. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2012; (6): 45-52.
21. Троценко О.Е., Казеннова Е.В., Бобков А.Ф., Богач В.В., Балахонцева Л.А., Котова В.О. Молекулярно-эпидемиологические исследования среди ВИЧ-инфицированных пациентов в Дальневосточном федеральном округе. *Дальневосточный журнал инфекционной патологии*. 2004; (4): 54-60.
22. Туманов А.С., Казеннова Е.В., Громов К.Б., Ломакина Е.А., Зозуля Е.Ю., Берсенева П.Г. и др. Молекулярно-эпидемиологический анализ ВИЧ-инфекции в Сахалинской области. *ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии*. 2017; 9(3): 113-20.
23. Казеннова Е.В., Антонова О.В., Кузин С.Н., Серкина Е.П., Соколова С.С., Васильев А.В. и др. Молекулярно-эпидемиологическое исследование распространения ВИЧ-1 на территории Республики Саха (Якутия). *Вопросы вирусологии*. 2011; 56(5): 30-4.
24. Казеннова Е.В., Нешумаев Д.А., Рукавицин Д.В., Лаповок И.А., Лага В.Ю., Ракчеева О.В. и др. Молекулярно-эпидемиологический анализ эпидемии ВИЧ-инфекции в Благовещенске и Хабаровске (Дальний Восток России). *Вопросы вирусологии*. 2014; 59(4): 31-6.
26. Казеннова Е.В., Лаповок И.А., Васильев А.В., Лага В.Ю., Гренина Л.А., Волова Л.Ю. и др. Проблемы субтипирования ВИЧ-1 на основе анализа гена *pol* и способы их разрешения. *ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии*. 2010; 3(2): 42-8.
28. Москалейчик Ф.Ф., Лага В.Ю., Дельгадо Е., Вега И., Фернандес-Гарсия А., Перес-Альварес Л. и др. Стремительное распространение циркулирующей рекомбинантной формы CRF02-AG ВИЧ-1 на территории России и сопредельных стран. *Вопросы вирусологии*. 2015; 60(6): 14-9.
29. Казеннова Е.В., Васильев А.В., Лаповок И.А., Гришечкин А.Е., Лага В.Ю., Саламов Г.Г. и др. Генетические варианты ВИЧ-1 в азиатской части России (2005-2010). *Вопросы вирусологии*. 2013; 58(4): 28-35.

REFERENCES

1. Taenkova I.O., Balakhontseva L.A., Kotova V.O., Trotsenko O.E. Epidemiology and prevention of HIV-infection in the Far Eastern Federal District at the Present Stage. *Dal'nevostochnyy zhurnal infektsionnoy patologii*. 2017; (32): 68-72. (in Russian)
2. Bobkova M.R. *Drug Resistance of HIV [Lekarstvennaya ustoychivost' VICH]*. Moscow: Chelovek; 2014. (in Russian)
3. Arien K.K., Vanham G., Arts E.J. Is HIV-1 evolving to a less virulent form in humans? *Nat. Rev. Microbiol.* 2007; 5(2): 141-51.
4. Robertson D.L., Anderson J.P., Bradac J.A., Carr J.K., Foley B., Funkhouser R.K., et al. *HIV-1 Nomenclature Proposal: A Reference Guide to HIV-1 Classification. Human Retroviruses and AIDS 1999*. Los Alamos, NM: Los Alamos National Laboratory; 1999.
5. Hemelaar J. Implications of HIV diversity for the HIV-1 pandemic. *J. Infect.* 2013; 66(5): 391-400. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.jinf.2012.10.026>
6. Thomson M.M., Delgado E., Manjon N., Ocampo A., Villahermosa M.L., Mariño A., et al. HIV-1 genetic diversity in Galicia, Spain: BG intersubtype recombinant viruses circulating among injecting drug users. *AIDS*. 2001; 15(4): 509-16.
7. Delgado E., Thomson M.M., Villahermosa M.L., Sierra M., Ocampo A., Miralles C., et al. Identification of a newly characterized HIV-1 BG intersubtype circulating recombinant form in Galicia, Spain, which exhibits a pseudotype-like virion structure. *J. Acquir. Immune Defic. Syndr.* 2002; 29(5): 536-43.
8. Esteves A., Parreira R., Veneno T., Franco M., Piedade J., Germano de Sousa J., et al. Molecular epidemiology of HIV type 1

- infection in Portugal: high prevalence of non-B subtypes. *AIDS Res. Hum. Retroviruses*. 2002; 18(5): 313-25. Doi: <https://doi.org/10.1089/088922202753519089>
9. Foley B.T., Leitner T., Paraskevis D., Peeter M. Primate immunodeficiency virus classification and nomenclature. *Infect. Genet. Evol.* 2016; 46: 150-8. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2016.10.018>
 10. Tebit D.M. Tracking a century of global expansion and evolution of HIV to drive understanding and to combat disease. *Lancet. Infect. Dis.* 2011; 11(1): 45-56. Doi: [https://doi.org/10.1016/S1473-3099-\(10\)70186-9](https://doi.org/10.1016/S1473-3099-(10)70186-9)
 11. Belyakov N.A., Rakhmanova A.G., eds. *Human Immunodeficiency Virus – Medicine [Virus immunodefitsita cheloveka – meditsina]*. St. Petersburg; 2011. (in Russian)
 12. Korber B., Theiler J., Wolinsky S. Limitations of a molecular clock applied to considerations of the origin of HIV-1. *Science*. 1998; 280(5371): 1868-71.
 13. Sharman A. *Acquired Immune Deficiency Syndrome. Epidemiology, Molecular Cell Aspects, Principles of Diagnosis, Therapy, Prevention of HIV Infection and Acquired Immunodeficiency Syndrome [Sindrom priobretennogo immunodefitsita. Epidemiologiya, molekulyarno-kletochnye aspekty, printsipy diagnostiki, terapii, profilaktiki VICH-infektsii i sindroma priobretennogo immunodefitsita]*. Bethesda, USA: NeuroNex; 2006. (in Russian)
 14. Hemelaar J., Gouws E., Ghys P.D., Osmanov S. Global trends in molecular epidemiology of HIV-1 during 2000-2007. *AIDS*. 2011; 25(5): 679-89. Doi: <https://doi.org/10.1097/QAD.0b013e328342ff93>
 15. Vazquez de Parga E., Rakhmanova A.G., Perez-Alvarez L., Vinogradova A.N., Delgado E., Tomson M., et al. Analysis of HIV-1 drug resistance-associated mutations in untreated individuals Infected with different HIV-1 strains prevalent in Fsu countries. *VICH-infektsiya i immunosupressii*. 2009; 1(2): 50-6. (in Russian)
 16. Dement'eva N.E., Sizova N.V., Lisitsina Z.N., Maklakova V.A., Krutitskaya L.I., Belyakov N.A. Analysis of HIV subtypes and drug-resistant variants circulating in Saint-Petersburg. *VICH-infektsiya i immunosupressii*. 2011; 3(4): 34-43. (in Russian)
 17. Bobkova M. Current status of HIV-1 diversity and drug resistance monitoring in the former USSR. *AIDS Rev*. 2013; 15(4): 204-12.
 18. Baryshev P.B., Bogachev V.V., Gashnikova N.M. Genetic characterization of an isolate of HIV type 1 AG recombinant form circulating in Siberia, Russia. *Arch. Virol.* 2012; 157(12): 2335-41. Doi: <https://doi.org/10.1007/s00705-012-1442-4>
 19. Gashnikova N.M., Safronov P.F., Nikonorova Yu.V., Unagaeva N.V., Lapteva T.A. Properties of CRF02_AG HIV-1 isolates circulating in Novosibirsk region. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii*. 2011; (3): 38-43. (in Russian)
 20. Bogachev V.V., Totmenin A.V., Baryshev P.B., Meshcheryakova Yu.V., Chernousova N.Ya., Gashnikova N.M. Molecular-genetic characteristic of HIV-1 A and B subtypes variants isolated in Novosibirsk region. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii*. 2012; (6): 45-52. (in Russian)
 21. Trotsenko O.E., Kazennova E.V., Bobkov A.F., Bogach V.V., Balakhontseva L.A., Kotova V.O. Molecular-epidemiological researches among HIV-infected patients in the far Eastern Federal District. *Dal'nevostochnyy zhurnal infektsionnoy patologii*. 2004; (4): 54-60. (in Russian)
 22. Tumanov A.S., Kazennova E.V., Gromov K.B., Lomakina E.A., Zozulya E.Yu., Bersenev P.G., et al. The molecular epidemiological analysis of HIV infection in Sakhalin region, Russia. *VICH-infektsiya i immunosupressii*. 2017; 9(3): 113-20. (in Russian)
 23. Kazennova E.V., Antonova O.V., Kuzin S.N., Serkina E.P., Sokolova S.S., Vasil'ev A.V., et al. Molecular and epidemiology studies of HIV-1 prevalence in the Republic of Sakha (Yakutia). *Voprosy virusologii*. 2011; 56(5): 30-4. (in Russian)
 24. Kazennova E.V., Neshumayev D.A., Rukavitsin D.V., Lapovok I.A., Laga V.Yu., Rakcheeva O.V., et al. Molecular epidemiological analysis of the HIV infection in the Blagoveshchensk and Khabarovsk Area (Russian Far East). *Voprosy virusologii*. 2014; 59(4): 31-6. (in Russian)
 25. Kazennova E., Laga V., Lapovok I., Glushchenko N., Neshumayev D., Vasilyev A., et al. HIV-1 Genetic Variants in the Russian Far East. *AIDS Res. Hum. Retroviruses*. 2014; 30(8): 742-52. Doi: <https://doi.org/10.1089/AID.2013.0194>
 26. Kazennova E.V., Lapovok I.A., Vasil'ev A.V., Laga V.Yu., Grezina L.A., Volova L.Yu., et al. Problems of subtyping of HIV-1 on the base of Pol gene and ways of their permission. *VICH-infektsiya i immunosupressii*. 2010; 3(2): 42-8. (in Russian)
 27. Tamura K., Stecher G., Peterson D., Filipki A., Kumar S. MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 6.0. *Mol. Biol. Evol.* 2013; (30): 2725-29. Doi: <https://doi.org/10.1093/molbev/mst197>
 28. Moskaleychik F.F., Laga V.Yu., Delgado E., Vega I., Fernandes-Garsiya A., Peres-Alvares L., et al. Rapid spread of the HIV-1 circular recombinant CRF02-AG in Russia and neighboring countries. *Voprosy virusologii*. 2015; 60(6): 14-9. (in Russian)
 29. Kazennova E.V., Vasil'ev A.V., Lapovok I.A., Grishechkin A.E., Laga V.Yu., Salamov G.G. HiV-1 Genetic Variants in the Asian Part of Russia: a Study (2005-2010). *Voprosy virusologii*. 2013; 58(4): 28-35. (in Russian)
 30. Saad M.D., Shcherbinskaya A.M., Nadai Y., Kruglov Y.V., Antonenko S.V., Lyulchuk M.G., et al. Molecular Epidemiology of HIV Type 1 in Ukraine: Birthplace of an Epidemic. *AIDS Res. Hum. Retroviruses*. 2006; 22 (8): 709-14. Doi: <https://doi.org/10.1089/aid.2006.22.709>
 31. Wilbe K., Casper C., Albert J., Leitner T. Identification of two CRF11-cpxgenomes and two preliminary representatives of a new circulating recombinant form (CRF13_cpx) of HIV type 1 in Cameroon. *AIDS Res. Hum. Retroviruses*. 2002; 18(12): 849-56. Doi: <https://doi.org/10.1089/08892220260190326>
 32. Montavon C., Vergne L., Bourgeois A., Mpoudi-Ngole E., Malonga-Mouellet G., Butel C., et al. Identification of a new circulating recombinant form of HIV type 1, CRF11-cpx, involving subtypes A, G, J, and CRF01-AE, in Central Africa. *AIDS Res. Hum. Retroviruses*. 2002; 18(3): 231-6. Doi: <https://doi.org/10.1089/08892220252781301>
 33. Carr J.K., Nadai Y., Eyzaguirre L., Saad M.D., Khakimov M.M., Yakubov S.K., et al. Outbreak of a West African recombinant of HIV-1 in Tashkent, Uzbekistan. *J. Acquir. Immune Defic. Syndr.* 2005; 39(5): 570-5.

Поступила 07.06.18

Принята в печать 19.06.18