

Лаповок И. А.<sup>1</sup>, Лага В. Ю.<sup>1</sup>, Казеннова Е. В.<sup>1</sup>, Васильев А. В.<sup>1</sup>, Дзисюк Н. В.<sup>2</sup>, Утегенова А. К.<sup>2</sup>,  
Абишев А. Т.<sup>2</sup>, Тукеев М. С.<sup>2</sup>, Бобкова М. Р.<sup>1</sup>

## Молекулярно-эпидемиологический анализ ВИЧ-1 в Казахстане в 2009 – 2013 гг.

<sup>1</sup>Институт вирусологии им. Д. И. Ивановского ФГБУ «Федеральный научно-исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии им. почетного академика Н. Ф. Гамалеи» Минздрава России, 123098, г. Москва; <sup>2</sup>ГУ «Республиканский центр по профилактике и борьбе со СПИД» Минздрава Республики Казахстан, 050008, г. Алматы, Казахстан

Исследование посвящено анализу гена *pol* 205 образцов ВИЧ-1, собранных в Казахстане в 2009 и 2012–2013 гг. Получены данные о доминировании в Алматы и активной циркуляции в Восточно-Казахстанской области рекомбинантного варианта CRF02\_AG, при этом на основной территории Казахстана продолжает доминировать вариант IDU-A. Отмечена низкая распространенность (3%) мутаций лекарственной устойчивости к антиретровирусным препаратам в группе нелеченых пациентов.

Ключевые слова: ВИЧ-1; потребители инъекционных наркотиков; генотип; рекомбинант; вирусный вариант; IDU-A; CRF02\_AG; лекарственная устойчивость.

Для цитирования: Вопросы вирусологии. 2015; 60(4): 29–37.

Lapovok I.A.<sup>1</sup>, Laga V.Y.<sup>1</sup>, Kazennova E.V.<sup>1</sup>, Vasilyev A.V.<sup>1</sup>, Dzissyuk N.V.<sup>2</sup>, Utegenova A. K.<sup>2</sup>, Abishev A.T.<sup>2</sup>,  
Tukeev M.S.<sup>2</sup>, Bobkova M.R.<sup>1</sup>

### Molecular epidemiological analysis of HIV-1 in Kazakhstan in 2009-2013

<sup>1</sup>The D.I. Ivanovsky Institute of Virology Federal State Budgetary Institution "Federal Research Centre for Epidemiology and Microbiology named after the honorary academician N.F. Gamaleya", 123098, Moscow, Russia; <sup>2</sup>Republican AIDS Center, 050008, Almaty, Kazakhstan

In this study *pol* gene analysis of 205 HIV-1 samples collected in Kazakhstan in 2009 and 2012-2013 was carried out. CRF02\_AG variant is dominating in Almaty and actively circulates in East Kazakhstan Province. IDU-A variant is dominating in the rest of Kazakhstan. The data on low prevalence (3%) of HIV drug resistance mutations in native patients were obtained.

Key words: HIV-1; IDU; genotype; recombinant; viral variant; IDU-A; CRF02\_AG; drug resistance.

Citation: Voprosy virusologii. 2015; 60(4): 29–37. (In Russ.)

For correspondence: Ilya Lapovok, MD, PhD; e-mail: i\_lapovok@mail.ru

Received 03.06.14

### Введение

Эпидемия ВИЧ-инфекции в странах Центральной Азии продолжает развиваться, и по темпам прироста числа инфицированных людей этот регион занимает сейчас лидирующую позицию в мире. В числе стран, вовлеченных в эпидемический процесс, одной из первых стал Казахстан, где темпы ежегодного роста эпидемии, по данным за 2011 г., превышают 25% [1].

Распространение ВИЧ-инфекции в Казахстане началось несколькими годами позже, чем это в Украине и России, и массивный рост числа случаев регистрировался приблизительно с начала 2000-х годов. Основными уязвимыми группами по риску заражения в первые годы были те же, что и в других странах СНГ, т. е. потребители инъекционных наркотиков (ПИН) и как следствие их гетеросексуальные партнеры. Программы лечения ВИЧ-инфекции также несколько задержались в сравнении с Россией, охват терапией до сих пор ограничен, и в настоящее время доля пациентов, получающих терапию, среди нуждающихся в ней составляет 27% [1].

Эпидемиологи выделяют 4 этапа эпидемии ВИЧ-инфекции в Казахстане [2]:

1. 1987–1995 гг. – небольшое число ВИЧ-инфицированных лиц, стабильное и медленное увеличение числа новых случаев инфицирования.

2. 1996–2000 гг. – первая волна эпидемии, характери-

зующаяся заметным увеличением числа новых случаев инфицирования главным образом из-за проникновения вируса в среду ПИН в Темиртау Карагандинской области.

3. 2001–2004 гг. – вторая волна инфекции, вызванная массовым распространением ВИЧ в Павлодаре, а также на западе и юге Казахстана.

4. 2005 г. по настоящее время – третья волна инфекции, связанная со вспышкой ВИЧ-инфекции в Алматы; с этого же времени растет число случаев передачи вируса половым путем.

На начало 2012 г. в Казахстане официально было зарегистрировано 17 763 ВИЧ-инфицированных лиц, из которых мужчины составляли 70,1%, женщины – 27,6%, дети до 14 лет – 2,1% [3]. Основным путем инфицирования в Казахстане, как и в большинстве сопредельных стран, остается потребление инъекционных наркотиков [4, 5], при этом доля гетеросексуальной передачи продолжает расти.

Молекулярные исследования вариантов ВИЧ, распространенных в Казахстане, проводились в 1999–2001 и 2003 гг. [6, 7]. Как было показано в 2002 г., в северных регионах страны (Караганда, Павлодар) и в Алматы доминировал вариант IDU-A подтипа А ВИЧ-1, т. е. тот же вирус, который преобладал (и продолжает доминировать) в большинстве стран СНГ. Уже на третьем эта-

пе, на фоне доминирования варианта IDU-A [6] во всех регионах Казахстана, в стране были зарегистрированы отдельные случаи инфекции ВИЧ-1 рекомбинантного варианта CRF02\_AG [7]. Этот вариант, обычный для Западной Африки, вначале был обнаружен в 2002–2003 гг. в Узбекистане, а сейчас широко распространен и в других странах Центральной Азии [4, 5, 7–10]. С тех пор новых данных о генетических вариантах ВИЧ в Казахстане не поступало.

В последние годы в Казахстане внедряется методология генотипирования ВИЧ с целью анализа лекарственной устойчивости. Данные, получаемые с помощью этого метода, могут служить важным источником информации о генетических вариантах вирусов, циркулирующих в стране. В ходе такого исследования могут быть выявлены как основные (major) мутации, определяющие собственную лекарственную устойчивость вируса, так и мутации полиморфизма, возникающие в участках генома вне связи с характером лечения и его эффективностью [11, 12].

Целью данной работы были исследование гена *pol* образцов ВИЧ-1, собранных в Казахстане в 2009–2013 гг., и сравнительный анализ изменчивости вируса в ходе эпидемии с момента ее начала.

### Материалы и методы

Образцы крови от ВИЧ-инфицированных пациентов, принадлежащих к разным группам риска и проживающих в различных регионах Казахстана, получали с их информированного согласия. Общее число пациентов, получающих антиретровирусную терапию (лечение), составило 40, число пациентов, никогда не получавших специфического лечения (нелеченные), – 165. Образцы были собраны в 2 этапа: в 2009 г. (коллекция 2009) и 2012–2013 гг. (коллекция 2012–2013). В качестве материала для исследования на первом этапе были использованы мононуклеарные клетчат периферической крови (МКПК), содержащие провирусную ДНК ВИЧ, на втором этапе – РНК ВИЧ, выделенная из плазмы крови. Всего было собрано 50 образцов коллекции 2009 и 115 образцов коллекции 2012–2013.

Провирусную ДНК ВИЧ-1 из МКПК выделяли с помощью системы DNA/RNA Extractor QIAcube и QIAamp DNA Blood Mini Kit («Qiagen», США) в соответствии с инструкцией производителя [13]. Провирусная ДНК затем была использована в качестве матрицы в *in-house*-модификации гнездовой ПЦР. В результате получали последовательности двух участков гена *pol*: область протеазы с 1-й по 99-ю аминокислоту (положения 2253–2549 в соответствии с вариантом HXB2 [12]), область обратной транскриптазы с 45-й по 241-ю аминокислоту (положения 2682 – 3272 нуклеотидных оснований (н. о.)) и область интегразы с 1-й по 205-ю аминокислоту (положения 4230 – 4844 н.о.). Последовательности исследуемых областей ДНК получали с применением методики, опубликованной ранее [14].

Для части образцов была исследована РНК ВИЧ-1 из плазмы крови. Анализ проводили с помощью системы АмплиСенс® HIV-Resist-Seq («ИнтерЛабСервис», Россия) или системы ViroSeq™ HIV-1 Genotyping System version 2.0 («Abbott», США).

Всего с помощью системы АмплиСенс и методом *in-house* были получены нуклеотидные последовательности областей, кодирующих протеазу и обратную транскриптазу, в 50 образцах коллекции, собранной в 2009 г. В коллекции 2012–2013 гг. 141 образец был проанализирован с применением системы АмплиСенс, еще для 14 образцов этой коллекции соответствующие области генома были получены с применением системы ViroSeq.

Кроме того, с помощью *in-house*-метода, описанного выше, были получены последовательности области обратной транскриптазы для 9 образцов ДНК МКПК, собранных в Казахстане в 1999 – 2002 гг. (коллекция 2002) [6], и 15 последовательностей области интегразы гена *pol* коллекции 2009.

Выравнивание последовательностей, полученных при анализе всех образцов генетического материала, филогенетический анализ по принципу максимального правдоподобия, а также анализ генетической дистанции выполняли с применением программы MEGA 5.0 (Институт биодизайна, Темпе, Аризона, США) [15].

Определение генотипа и анализ мутаций устойчивости в образцах от леченных пациентов проводили с помощью on-line приложений COMET HIV-1/2 & HCV v. 0.2 [16] и HmIVdb Program v.6.2.0 [17] соответственно.

### Результаты и обсуждение

*Анализ эпидемиологических данных коллекций 2009 и 2012–2013.* В 2009 г. было получено 50 образцов крови от ВИЧ-инфицированных пациентов. Соотношение мужчины/женщины составило 30:20. 12 пациентов, 9 из которых – женщины, были инфицированы в результате половых контактов, что составило 24%, 37 (74%) человек относились к группе ПИН. У одного пациента способ инфицирования не был установлен. Средний возраст пациентов составил 33 года (21–53 года). Образцы в 2009 г. были получены из Алматинской области ( $n = 22$ ), Восточно-Казахстанской области ( $n = 16$ ), Караганды ( $n = 10$ ) и Павлодара ( $n = 2$ ).

В 2012–2013 гг. были собраны образцы от 155 ВИЧ-инфицированных пациентов. Доля мужчин в данной выборке была близка к таковой в коллекции 2009 г. – 56%, при этом соотношение путей заражения отличалось: 93 (60%) случая инфекции из 155 стали результатом гетеросексуальных контактов, и лишь 49 (32%) пациентов относились к группе ПИН. 7 пациентов (дети от 2 мес до 3 лет) были инфицированы в результате передачи инфекции от матерей вертикальным путем, 1 пациент – в результате гомосексуального контакта, еще для 5 человек путь инфицирования остался невыясненным. Средний возраст пациентов этой коллекции также составил 33 года (4–55 лет). Образцы были получены из Алматинской области ( $n = 48$ ), Восточно-Казахстанской области ( $n = 7$ ), Караганды ( $n = 58$ ), Павлодара ( $n = 10$ ), Южно-Казахстанской области ( $n = 21$ ) и других регионов ( $n = 11$ ).

*Анализ гена *pol* в коллекциях 2009 и 2012–2013.* Подтипная принадлежность была определена для всех анализированных образцов ВИЧ-1 (табл. 1).

По данным on-line генотипирования и филогенетического анализа 24 (48%) образца коллекции 2009 относились к генетическому варианту IDU-A, 2 (4%) – к рекомбинантному варианту CRF03\_AB, 21 (42,0%) – к рекомбинанту CRF02\_AG.

В коллекции 2012–2013 99/155 (63,9%) образцов относились к варианту IDU-A, 51 (32,9%) – к тому же варианту CRF02\_AG, что и образцы 2009 г.

Из вирусов других генетических вариантов мы обнаружили в этой коллекции 2 образца подтипа В (от гетеросексуальных мужчин из Алматы и Караганды соответственно), 1 образец CRF03\_AB (от 51-летней женщины из Алматы, относящейся к группе ПИН и, по эпидемиологическим данным, инфицированной в 2003 г. в Калининграде) и 1 образец от гетеросексуального мужчины 42 лет из Алматы, относящийся к рекомбинанту CRF07\_BC (рис. 1).

В одном образце коллекции 2009 был получен сложный для интерпретации результат генотипирования



Рис. 1. Результат филогенетического анализа региона РНК, кодирующего протеазу и обратную транскриптазу ВИЧ-1 (положение 2253 - 3245 по отношению к варианту HXB-2, GenBank K03455), методом максимального правдоподобия (500 независимых построений).

Коллекция 2009 г. отмечена треугольниками, коллекция 2012–2013 гг. – квадратами. Для всех образцов предварительно были получены данные о геномном типе с использованием on-line приложения COMET HIV-1/2 & HCV v. 0.2 (результат определения генотипа указан в названиях образцов). Анализ был проведен с использованием статистической модели нуклеотидных замен (HKY+G). Здесь и на рис. 2 и 3 образцы группы сравнения обозначены их номерами в GenBank. Фигурными скобками выделены кластеры, образуемые последовательностями различных генетических вариантов.

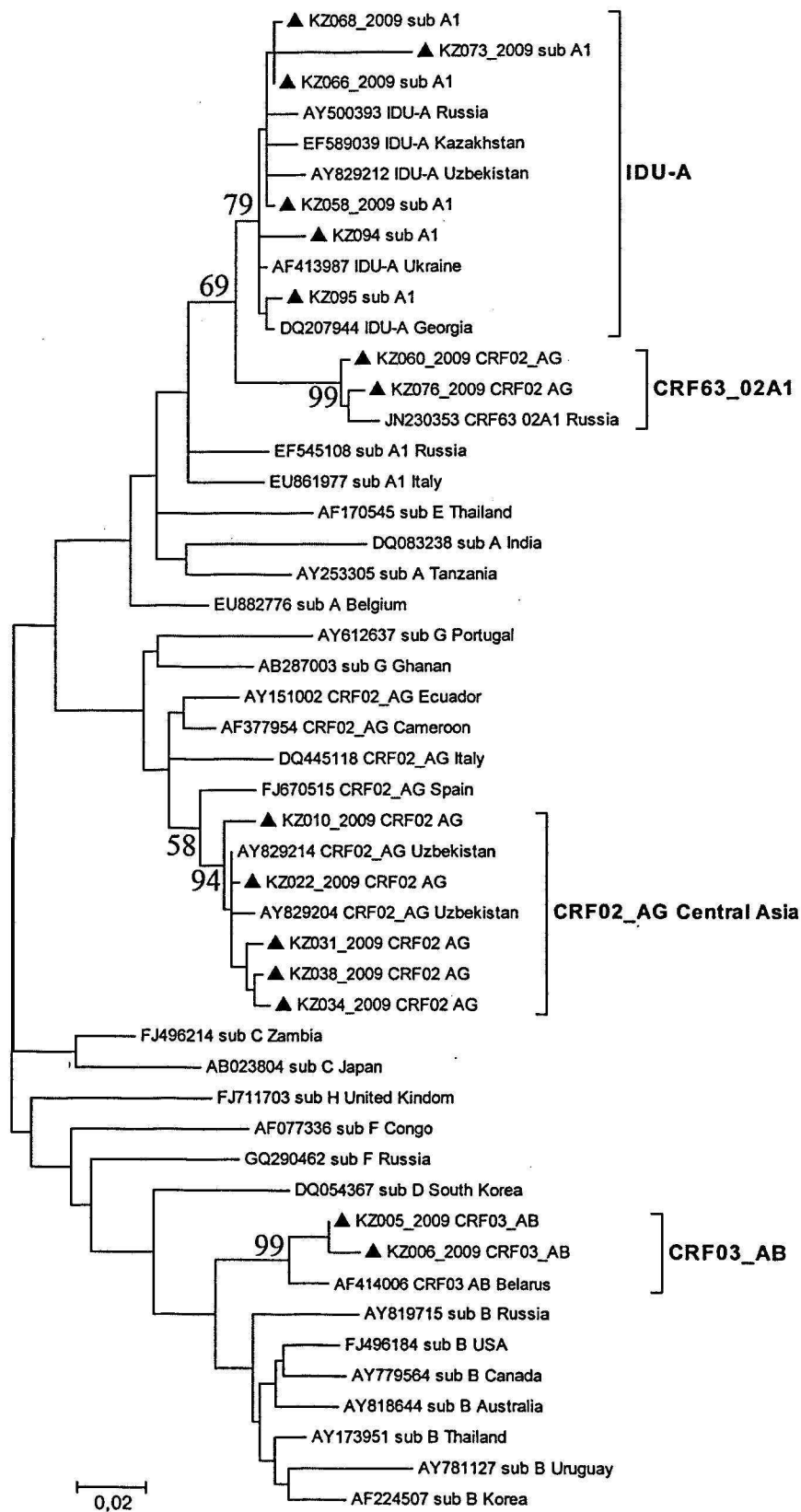


Рис. 2. Результат филогенетического анализа региона РНК, кодирующего интегразу ВИЧ-1 (с 1-й по 205-ю аминокислоту, положение 4230–4844 по отношению к варианту НХВ-2, GenBank K03455) образцов коллекции 2009 г. (выделены треугольниками, методом максимального правдоподобия (500 независимых построений)).

Для всех образцов предварительно были получены данные о генотипе с использованием on-line приложения COMET HIV-1/2 & HCV v. 0.2 (результаты определения генотипа указаны в названиях образцов). Анализ был проведен с использованием статистической модели нуклеотидных замен (GTR+G).

Таблица 1  
Распределение генетических вариантов ВИЧ-1 в коллекциях 2009 и 2012–2013 гг.

| Регион/город Казахстана    | Количество образцов |          |          |           |            | итого |
|----------------------------|---------------------|----------|----------|-----------|------------|-------|
|                            | IDU-A               | CRF02_AG | CRF03_AB | CRF6302A1 | V/CRF07_BC |       |
| <i>Коллекция 2009</i>      |                     |          |          |           |            |       |
| Восточный Казахстан        | 12                  | 1        | -        | 3         | -          | 16    |
| Алматы                     | -                   | 20       | 2        | -         | -          | 22    |
| Павлодар                   | 2                   | -        | -        | -         | -          | 2     |
| Караганда                  | 10                  | -        | -        | -         | -          | 10    |
| <i>Коллекция 2012-2013</i> |                     |          |          |           |            |       |
| Восточный Казахстан        | 5                   | 2        | -        | -         | -          | 7     |
| Алматы                     | 7                   | 38       | 1        | -         | 2          | 48    |
| Павлодар                   | 10                  | -        | -        | -         | -          | 10    |
| Караганда                  | 54                  | 3        | -        | -         | 1          | 58    |
| Южный Казахстан            | 15                  | 5        | -        | 1         | -          | 21    |
| Западный Казахстан         | 2                   | -        | -        | -         | -          | 2     |
| Астана                     | 3                   | 1        | -        | -         | -          | 4     |
| Костанай                   | 2                   | -        | -        | -         | -          | 2     |
| Кызылорда                  | -                   | 2        | -        | -         | -          | 2     |
| Мангистау                  | 1                   | -        | -        | -         | -          | 1     |
| Всего...                   | 123                 | 72       | 3        | 4         | 3          | 205   |

области протеазы и обратной транскриптазы: при использовании *on-line* для субтипирования программ образец KZ060\_2009 можно было отнести как к подтипу A1, так и к рекомбинанту AG, в то время как филогенетический анализ демонстрировал его близость образцам подтипа G и рекомбинанта CRF02\_AG. Еще 3 образца – KZ076\_2009, KZ082\_2009 и KZ\_Sh2013\_165 – образовывали общую ветвь на филогенетическом дереве с новым рекомбинантным вариантом CRF63\_02/A1, описанным в Новосибирске [18]. Анализ этих образцов с применением программы RIP, предназначенной для идентификации рекомбинантов [17], выявил близость 4 упомянутых образцов CRF63\_02/A1. Дальнейший анализ последовательностей области интегразы подтвердил принадлежность образцов KZ060\_2009 и KZ076\_2009 к этой рекомби-

Таблица 2  
Мутации гена *pol* из списка SDRM [12], обнаруженные в образцах ВИЧ-1 от пациентов, не получающих специфической терапии

| Мутация                    | Препарат, к которому имеется устойчивость | Год постановки диагноза | Год получения образца | Регион              |
|----------------------------|---|-------------------------|-----------------------|---------------------|
| <i>Ингибиторы протеазы</i> |   |                         |                       |                     |
| D30N                       | NFV                                       | 2006                    | 2009                  | Караганда           |
| M46L                       | IDV, NFV, FPV, LPV ATV, TPV               | 2001                    | 2012                  | Караганда           |
| <i>НИОТ</i>                |   |                         |                       |                     |
| M184I                      | 3TC, FTC, ABC, ddI                        | 2008                    | 2009                  | Восточный Казахстан |
| <i>ННИОТ</i>               |   |                         |                       |                     |
| K103N                      | NVP, EFV                                  | 2006                    | 2009                  | Павлодар            |
| G190S                      | NVP, EFV                                  | 2007                    | 2009                  | Восточный Казахстан |

Примечание. Здесь и в табл. 3: НИОТ – нуклеозидные ингибиторы обратной транскриптазы; ННИОТ – ненуклеозидные ингибиторы обратной транскриптазы.

нантной форме, что доказывает факт циркуляции CRF63\_02/A1 на территории Казахстана в 2009 г. (рис. 2).

В обеих коллекциях была обнаружена закономерность в распределении генотипов между различными регионами страны. Так, большая часть образцов из Алматы (83,3% для коллекции 2009 и 79,2% – 2012–2013) оказалась принадлежащей к варианту CRF02\_AG. В свою очередь вариант IDU-A доминировал в Караганде (100% коллекции 2009 и 93,1% – 2012–2013), Павлодаре и Восточно-Казахстанской области.

Данная эпидемиологическая картина может быть следствием миграционных потоков из граничащих с Алматинской областью Киргизии и Узбекистана, где активно распространен CRF02\_AG [4, 5]. Это свидетельствует о роли Алматинской области как своеобразного проводника инфекции между центральной и северной частями

страны, с одной стороны, и другими странами Центральной Азии – с другой, через который происходит распространение CRF02\_AG по территории Казахстана.

*Анализ мутаций в составе исследованных областей генома.* Полученные в ходе работы последовательности гена *pol* были проанализированы с использованием *on-line* приложения HIVdb Program. В группе нелеченых пациентов осуществляли поиск замен из списка «надзорных мутаций лекарственной устойчивости» (surveillance drug resistance mutations – SDRM), для леченых пациентов использовали *on-line* ресурс [12]. Кроме того, был проанализирован естественный полиморфизм вируса в исследованных образцах.

Среди образцов ВИЧ-1, полученных от 165 наивных пациентов коллекций 2009 и 2012–2013, было обнаружено в общей сложности 5 образцов, содержащих по одной SDRM-мутации (табл. 2). Все вирусы, содержащие эти мутации, относились к IDU-A- варианту. Таким образом, частота распространения устойчивости среди нелеченых пациентов составила 3%.

В коллекции 2012–2013 присутствовало 40 образцов от пациентов, ранее имевших опыт антиретровирусной терапии. Наиболее распространенной схемой лечения в данной группе была комбинация зидовудин/ламивудин/невирапин, зидовудин/ламивудин/эфаверенц и зидовудин/ламивудин/лопинавир с ритонавиром. Мутации из перечня основных (major) в различных областях генома были обнаружены в 15 из 40 образцов (табл. 3).

Частота встречаемости мутаций полиморфизма для наивных и леченых пациентов представлена в табл. 4. Среди таковых можно отметить замену K20I в протеазе, характерную для рекомбинантов A/G. Она была обнаружена в общей сложности в 71,9% образцов CRF02\_AG и 50% образцов CRF63\_02A1 обеих коллекций. Характерная для варианта IDU-A мутация полиморфизма V77I была широко распространена в обеих коллекциях: данная замена в области протеазы была обнаружена в 58,3% образцов IDU-A коллекции 2009 и 28,3% - коллекции 2012–2013. Еще одной заменой, характерной только для IDU-A, стала I93L. Она была

Мутации гена *pol* [12], обнаруженные в образцах ВИЧ-1 от пациентов, имевших опыт специфической терапии ( $n = 40$ )

| Мутация      | Препарат, к которому имеется устойчивость | Число образцов с мутацией | Терапия, применяемая на момент генотипирования                                   |
|--------------|---|---------------------------|--|
| <i>НИОТ</i>  |   |                           |  |
| M184V        | 3TC, FTC, ABC, ddI                        | 11                        | AZT+3TC+NVP – 7 пациентов<br>AZT+3TC+EFV – 3 пациента<br>3TC+ABC+NVP – 1 пациент |
| T215YF       | 3TC ABC AZT d4T ddI FTC TDF               | 3                         | AZT+3TC+NVP – 1 пациент<br>AZT+3TC+EFV – 1 пациент<br>AZT+ABC+NVP – 1 пациент    |
| L210W        | AZT d4T ddI ABC TDF                       | 1 (с T215Y и M41L)        | AZT+3TC+EFV  |
| M41L         | AZT d4T ddI ABC TDF                       | 3 (два с T215Y)           | AZT+3TC+NVP – 1 пациент<br>AZT+3TC+EFV – 1 пациент<br>3TC+ABC+NVP – 1 пациент    |
| D67N         | AZT d4T ddI ABC TDF                       | 1 (с T215Y и M41L)        | 3TC+ABC+NVP  |
| L74I         | ddI ABC                                   | 1                         | AZT+3TC+EFV  |
| K219E        | AZT                                       | 1                         | 3TC+ABC+NVP  |
| <i>ННИОТ</i> |   |                           |  |
| K101E        | NVP EFV, ETR, RPV                         | 4                         | AZT+3TC+NVP – 2 пациента<br>AZT+3TC+EFV – 2 пациента                             |
| K103N        | NVP EFV                                   | 5                         | AZT+3TC+NVP – 3 пациента<br>AZT+3TC+EFV – 1 пациент<br>3TC+ABC+NVP – 1 пациент   |
| G190S/A      | NVP EFV                                   | 5                         | AZT+3TC+NVP – 3 пациента<br>AZT+3TC+EFV – 2 пациента                             |
| E138G        | NVP EFV, ETR, RPV                         | 1                         | AZT+3TC+NVP  |
| E179D        | NVP EFV, ETR, RPV                         | 1                         | AZT+3TC+EFV  |
| V106A        | NVP EFV                                   | 1                         | AZT+3TC+NVP  |

Примечание. Здесь и в табл. 3: НИОТ – нуклеозидные ингибиторы обратной транскриптазы; ННИОТ – ненуклеозидные ингибиторы обратной транскриптазы.

Мутации полиморфизма областей Pro и RT гена *pol*, обнаруженные в образцах ВИЧ-1 от нелеченых ( $n = 165$ ) и леченых пациентов ( $n = 40$ )

| Мутация                               | Коллекция 2009 ( $n = 50$ ) |                                 | Коллекция 2012–2013 ( $n = 155$ ) |                         |                         |  |
|---------------------------------------|-----------------------------|---------------------------------|-----------------------------------|-------------------------|-------------------------|--|
|                                       | доля в группе, %            | количество по генотипам         | леченые ( $n = 40$ )              |                         | нелеченые ( $n = 115$ ) |  |
|                                       |                             |                                 | доля в группе, %                  | количество по генотипам | доля в группе, %        | количество по генотипам                    |
| <i>Область протеазы</i>               |                             |                                 |                                   |                         |                         |  |
| K20I                                  | 44,0                        | CRF02_AG – 20<br>CRF63_02A1 – 2 | -                                 | -                       | 25,2                    | CRF02_AG – 29                              |
| L10I/V/F                              | 4,0                         | CRF02_AG – 1<br>IDU-A – 1       | 12,5                              | IDU-A – 5               | 13,9                    | CRF02_AG – 5<br>IDU-A – 10<br>CRF07_BC – 1 |
| I93L                                  | 14,0                        | IDU-A – 7                       | 45,0                              | IDU-A – 18              | 33,9                    | IDU-A – 39                                 |
| V77I                                  | 28,0                        | IDU-A – 14                      | 25,0                              | IDU-A – 10              | 15,7                    | IDU-A – 18                                 |
| <i>Область обратной транскриптазы</i> |                             |                                 |                                   |                         |                         |  |
| A62V                                  | 22,0                        | IDU-A – 11                      | 27,5%                             | IDU-A – 11              | 14,8                    | IDU-A – 17                                 |
| M184I/L                               | 4,0                         | CRF02_AG – 1<br>IDU-A – 1       | -                                 | -                       | -                       | -  |
| K238N                                 | 2,0                         | IDU-A – 1                       | -                                 | -                       | -                       | -  |
| E138A                                 | 2,0                         | IDU-A – 1                       | -                                 | -                       | 5,2                     | CRF02_AG – 2<br>IDU-A – 4                  |
| V179I/E                               | 2,0                         | IDU-A – 1                       | -                                 | -                       | 0,9                     | CRF07_BC – 1                               |
| V90I                                  | -                           | -                               | 2,5                               | IDU-A – 1               | -                       | -  |

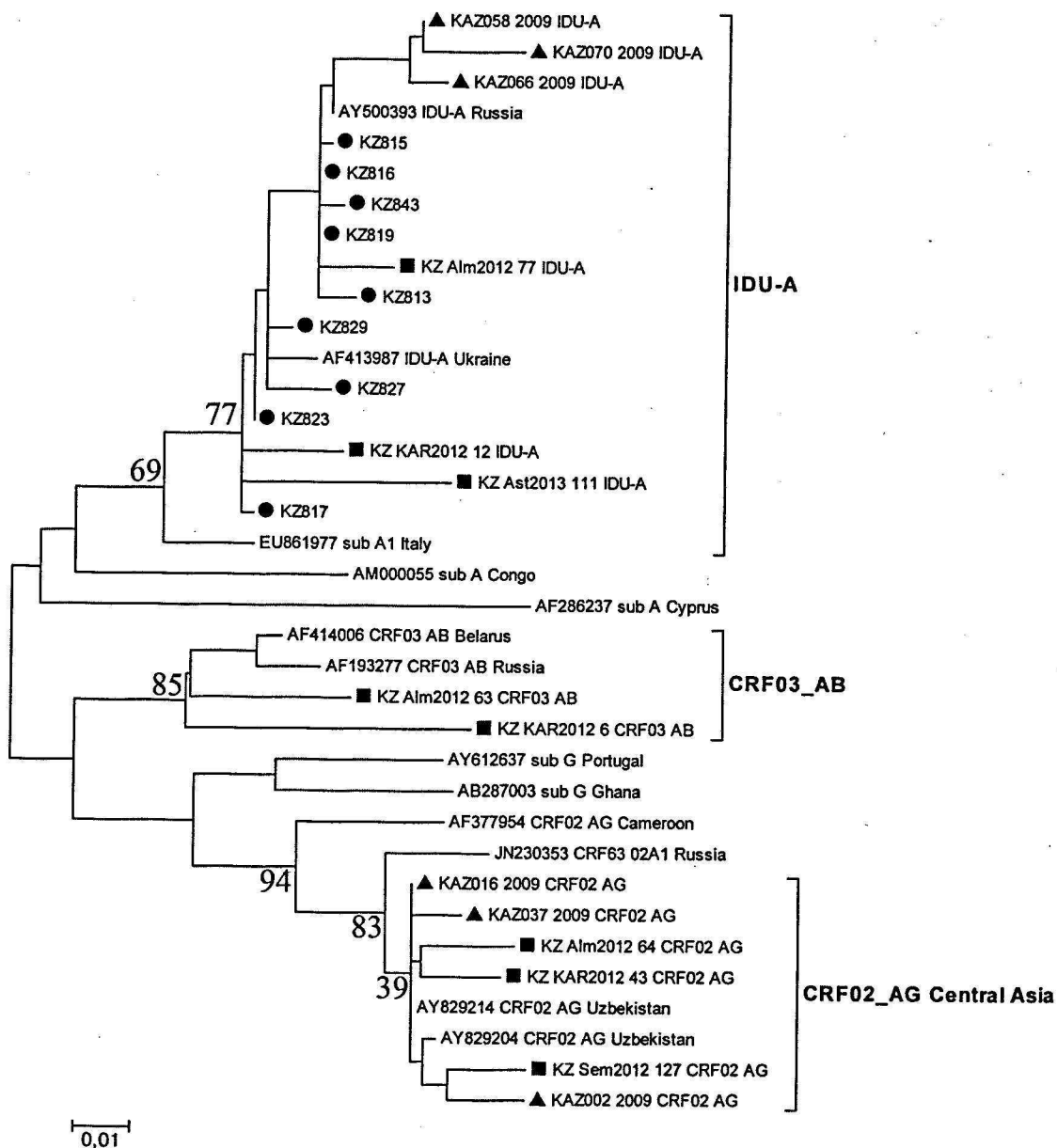


Рис. 3. Результат филогенетического анализа региона РНК, кодирующего обратную транскриптазу ВИЧ-1 (с 45-й по 222-ю аминокислоту, положение 2682–3215 по отношению к варианту HXB-2, GenBank K03455), методом максимального правдоподобия (500 независимых построений).

Коллекция 2002 г. отмечена кружками, коллекция 2009 г. – треугольниками, коллекция 2012–2013 гг. – квадратами. Для всех образцов указан генотип, предварительно определенный с помощью филогенетического анализа. Анализ был проведен с использованием статистической модели нуклеотидных замен (HKY+G).

обнаружена в 29,2 и 58,6% образцов IDU-A коллекций 2009 и 2012–2013 соответственно.

Распространенность замены A62V в области обратной транскриптазы для образцов IDU-A обеих коллекций составила 45,8 и 28,3% для обеих коллекций соответственно, при этом в 32 из 39 образцов обеих коллекций (82,1%), содержащих замену A62V, одновременно с ней присутствовала замена V77I.

Из 15 образцов коллекции 2009, для которых были получены последовательности, кодирующие интегразу, 2 относились к варианту CRF03\_AB и содержали полиморфную замену E157Q. Остальные относились к IDU-A и содержали замену L74I, которая является типичной для варианта IDU-A [19].

При исследовании области, кодирующей интегразу, был обнаружен 1 образец (KZ010\_2009), относящийся к рекомбинантному варианту CRF02\_AG и выделенный от пациента из Алматы, который содержал вставку в 48 нуклеотидов после 644-го нуклеотида интегразы. Эта вставка является дубликацией предыдущих 49 нуклеотидных остатков, за исключением одного аденилового нуклеотида. Это приводило к удлинению интегразы данного образца на границе каталитического и C-концевого доменов на 16 аминокислот, при этом не происходил сдвиг рамки считывания в области интегразы.

Анализ обратной транскриптазы ВИЧ-1 в образцах коллекции 2002. Коллекция ВИЧ-1, собранная в 1999–2002 гг. в Казахстане, была проанализирована в то время по генам

*gag* и *env* [6]; все образцы этой коллекции относились к варианту IDU-A. Ген *pol* этих образцов вируса ранее не был исследован, поэтому исключить их принадлежность к одному из рекомбинантов на основании данных 2002 г. было нельзя. Для уточнения генетического варианта ВИЧ-1 в коллекции 2002 был проведен анализ гена *pol*. В ходе этого дополнительного анализа были получены последовательности области обратной транскриптазы 9 образцов: 5 из Павлодара, 3 из Караганды и 1 из Шымкента (Южно-Казахстанская область). Филогенетический анализ полученных последовательностей в сравнении с образцами различных вариантов ВИЧ-1 из базы GenBank и последовательностями коллекций 2009 и 2012–2013 достоверно подтвердил принадлежность исследованных образцов коллекции 2002 к варианту IDU-A не только по генам *gag* и *env*, но и по гену *pol* (рис. 3). Пять из девяти образцов вируса содержали типичную для IDU-A замену A62V, что является дополнительным индикатором принадлежности образцов коллекции 2002 к этому варианту.

Никаких принципиальных отличий структуры последовательностей коллекции 2002 от коллекций 2009 и 2012–2013 обнаружено не было. Для установления факта возможной эволюции варианта IDU-A с течением времени была подсчитана генетическая дистанция области гена *pol*, а именно фрагмента 2748 – 3215 н. о. обратной транскриптазы для этого варианта в трех выборках. Учитывая тот факт, что основной группой риска в коллекции 2002 были ПИН, мы оценили генетическую дистанцию во всех трех коллекциях в пределах этой группы. Различия значений генетической дистанции между коллекциями 2009 и 2012–2013 не были статистически достоверными. Поэтому эти коллекции были объединены в одну группу. Генетическая дистанция в коллекции 2002 и объединенной группе 2009 и 2012–2013 составила 0,013 и 0,030 соответственно ( $p < 0,05$ ). Наконец, были подсчитаны генетические дистанции всех образцов IDU-A в коллекции 2002, с одной стороны, и в объединенной группе 2009 и 2012–2013 - с другой, независимо от группы риска. Генетическая дистанция для коллекций 2002 и 2009/2012–2013 составила 0,012 и 0,025 соответственно ( $p < 0,05$ ). Увеличенная генетическая дистанция в образцах IDU-A (в том числе от пациентов ПИН) коллекций 2009 и 2012–2013 свидетельствует о том, что вариант IDU-A в Казахстане с течением времени дивергировал, что привело к увеличению его гетерогенности в последние годы.

### Выводы

1. Проведен молекулярно-генетический анализ гена *pol* 205 образцов ВИЧ-1, собранных в различных регионах Казахстана в 2009 и 2012–2013 гг. Получены данные о доминировании варианта IDU-A на основной территории Казахстана, за исключением Алматы.

2. Получены сведения о доминировании в Алматы (82,9%) и об активном распространении в Восточно-Казахстанской области (26,1%) рекомбинантного варианта ВИЧ-1 CRF02\_AG.

3. Зафиксирована низкая распространенность в исследованной группе мутаций лекарственной устойчивости к антиретровирусным препаратам (3%).

Полученные в ходе работы нуклеотидные последовательности опубликованы в GenBank под номерами HQ739036-HQ739040, HQ739042, HQ739045-HQ739050, JF682734-JF682738, JF682742-JF682746, JF682748-JF682751, JF682755, JF682756, JF682758-JF682764, JF718184-JF718209, JF718211-JF718213, JF718215-JF718226, KC123195-KC123197, KC156527-KC156531, KC215144-KC215157, KJ396596-KJ396604, KF194217, KF208426, KF498449-KF498527, KF512380-KF512470, KF554429-KF554452, KF588572-KF588634, KF678858-

KF678860, KC215158, KC215159, KC215162-KC215164, KC215166, KC215169, KC215170, KC215172, KC215174, KC215175, KC215177- KC215180.

Работа выполнена при финансовой поддержке Седьмой рамочной программы Европейского Союза по проекту «Collaborative HIV and Anti-HIV Drug Resistance Network (CHAIN)» № 223131 и Международного Научно-технического Центра (МНТЦ) по проекту № 3826.

### ЛИТЕРАТУРА (п.п. 1, 4–13, 15–18 см. REFERENCES)

2. Ганина Л.Ю. Национальный отчет о выполнении дозорного эпидемиологического надзора в 2009 году. Алматы; 2010.
3. Тукеев М.С., Елизарьева А.В., Бокажанова А.Т., Петренко И.И., Ганина Л.Ю., Касымбекова С.Ж. Национальный отчет о выполнении Декларации о приверженности делу борьбы с ВИЧ и СПИД. Отчетный период: январь 2010 года – декабрь 2011 года. Алматы; 2012.
4. Лага В.Ю., Казеннова Е.В., Васильев А.В., Лаповок И.А., Исмаилова А., Бейшеева Н. Молекулярно-генетическая характеристика вариантов ВИЧ-1, распространенных на территории Киргизии. *Вопросы вирусологии*. 2012; 57 (5): 26–32.
19. Лаповок И.А., Лага В.Ю., Васильев А.В., Саламов Г.Г., Казеннова Е.В., Матковский И.А. и др. Молекулярно-генетический анализ области гена *pol*, кодирующей интегразу ВИЧ-1, среди пациентов из России и Украины. *ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии*. 2012; 4 (2): 73–81.

### REFERENCES

1. *Global report: UNAIDS report on the global AIDS epidemic 2012*. Geneva: UNAIDS; 2012.
2. Ganina L.Yu. *National Report about Epidemiological Monitoring in 2009 [Natsional'nyy Otchet o Vypolnenii Dozornogo Epidemiologicheskogo Nadzora v 2009 Godu]*. Алматы; 2010. (in Russian)
3. Tukeyev M.S., Elizar'eva A.V., Bokazhanova A.T., Petrenko I.I., Ganina L.Yu., Kasymbekova S.Zh. *National Report of the Implementation of the Declaration of Commitment on HIV and AIDS. Reporting period: January 2010 – December 2011 [Natsional'nyy Otchet o Vypolnenii Deklaratsii o Priverzhennosti Delu bor'by s VICH i SPID. Otchetnyy period: yanvar' 2010 goda – dekabr' 2011 goda]*. Алматы; 2012. (in Russian)
4. 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.
5. Kurbanov F., Kondo M., Tanaka Y., Zhalaliev M., Giasova G., Shima T. et al. Human immunodeficiency virus in Uzbekistan: epidemiological and genetic analyses. *AIDS Res. Hum. Retroviruses*. 2003; 19 (9): 731–8.
6. Bobkov A.F., Kazennova E.V., Sukhanova A.L., Bobkova M.R., Pokrovsky V.V., Zeman V.V. et al. An HIV type 1 subtype A outbreak among injecting drug users in Kazakhstan. *AIDS Res. Hum. Retroviruses*. 2004; 20 (10): 1134–6.
7. Eyzaguirre L.M., Erasiloiva I.B., Nadai Y., Saad M.D., Kivtunen N.G., Gomatos P.J. et al. Genetic characterization of HIV-1 strains circulating in Kazakhstan. *J. Acquir. Immune Defic. Syndr.* 2007; 46 (1): 19–23.
8. Andersson S., Norrgren H., Dias F., Biberfeld G., Albert J. Molecular characterization of human immunodeficiency virus (HIV)-1 and -2 in individuals from guinea-bissau with single or dual infections: predominance of a distinct HIV-1 subtype A/G recombinant in West Africa. *Virology*. 1999; 262 (2): 312–20.
9. Dowling W.E., Kim B., Mason C.J., Wasunna K.M., Alam U., Elson L. et al. Forty-one near full-length HIV-1 sequences from Kenya reveal an epidemic of subtype A and A-containing recombinants. *AIDS*. 2002; 16 (13): 1809–20.
10. Zhang M., Foley B., Schultz A.K., Macke J.P., Bulla I., Stanke M. et al. The role of recombination in the emergence of a complex and dynamic HIV epidemic. *Retrovirology*. 2010; 7: 25. Available at: <http://www.retrovirology.com/content/7/1/25>
11. Shahriar R., Rhee, S.Y., Liu T.F., Fessel W.J., Scarsella A., Towner W. et al. Nonpolymorphic human immunodeficiency virus type 1 protease and reverse transcriptase treatment-selected mutations. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2009; 53 (11): 4869–78.
12. HIV Drug Resistance Database. Available at: <http://hivdb.stanford.edu>.
13. Manual of QIAamp DNA Blood Mini QIAcube Kit. Available at: <https://www.qiagen.com/ru/products/catalog/automated-solutions/sample-prep/qiaamp-dna-blood-mini-qiacube-kit>



14. Laga V.Yu., Kazennova E.V., Vasil'ev A.V., Lapovok I.A., Ismailova A., Beysheeva N. et al. Molecular-genetic characterization of the HIV-1 variants abundant in Kirghizia. *Voprosy virusologii*. 2012; 57 (5): 26–32. (in Russian)
15. Tamura K., Peterson D., Peterson N., Stecher G., Nei M., Kumar S. MEGA5: molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. *Mol. Biol. Evol.* 2011; 28 (10): 2731–9.
16. COntext-based Modeling for Expeditious Typing HIV-1. Available at: <http://comet.retrovirology.lu/>.
17. HIV Databases. Available at: <http://www.hiv.lanl.gov/>.
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.
19. Lapovok I.A., Laga V.Yu., Vasil'ev A.V., Salamov G.G., Kazennova E.V., Matkovskiy I.A. et al. Molecular-genetic analysis of pol gene region coding for HIV-1 integrase in patients from Russia and Ukraine. *VICH-infektsiya i immunosupressii*. 2012; 4(2): 73–81. (in Russian)

Поступила 03.06.14

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2015  
УДК 616.98:578.835.151-078.33:615.373

Сейбиль В. Б.<sup>1</sup>, Малышкина Л. П.<sup>1</sup>, Агеева О. Т.<sup>2</sup>, Косолапова Е. И.<sup>3</sup>, Множинина Е. Г.<sup>4</sup>, Грошенкова Е. В.<sup>5</sup>, Кривцов Н. В.<sup>6</sup>, Гурьянова Н. И.<sup>7</sup>, Дальцаева М. К.<sup>8</sup>, Фомина Н. С.<sup>9</sup>

## Коллективный иммунитет к полиомиелиту у населения отдельных регионов России

<sup>1</sup>ФГБУ «Институт полиомиелита и вирусных энцефалитов им. М. П. Чумакова», 142782, г. Москва; <sup>2</sup>ФГУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Воронежской области», 394038, г. Воронеж; <sup>3</sup>ФГУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Калужской области», 248018, г. Калуга; <sup>4</sup>ФГУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии Московской области», 141014, г. Мытищи; <sup>5</sup>ФГУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Ярославской области», 150054, г. Ярославль; <sup>6</sup>ФГУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии Республики Алтай», 649002, г. Горно-Алтайск; <sup>7</sup>ФГУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Республике Северная Осетия – Алания», 362021, г. Владикавказ; <sup>8</sup>ФГУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии Чеченской республики», 364038, г. Грозный; <sup>9</sup>ФГУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Ненецком автономном округе», 166000, г. Нарьян-Мар

Целью настоящего исследования является изучение состояния коллективного иммунитета к полиомиелиту у населения 8 областей и республик России. Показатели коллективного иммунитета к полиомиелиту позволяют, с одной стороны, судить о качестве проводимой вакцинопрофилактики, а с другой стороны, показывают степень защищенности населения от возможной инфекции. В 8 регионах обследовано 2138 человек. Антитела к полиовирусу I – III типов определяли с помощью вакцинных вирусов Сэбина в реакции нейтрализации в культуре ткани клеток RD.

В результате установлено, что вакцинопрофилактика полиомиелита в обследованных регионах проводится на достаточно высоком уровне, благодаря чему число обследованных с антителами во многих регионах и возрастных группах достигает или приближается к 100 %, а средняя геометрическая титра антител также имеет высокие показатели.

Исследование убедительно доказало необходимость продолжать вакцинопрофилактику населения от полиомиелита и контролировать состояние коллективного иммунитета.

Ключевые слова: полиомиелит; коллективный иммунитет у привитых; вакцинопрофилактика.

Для цитирования: Вопросы вирусологии. 2015; 60(4): 37–40.

Seybil V.B.<sup>1</sup>, Malysheva L.P.<sup>1</sup>, Ageeva O.T.<sup>2</sup>, Kosolapova E.I.<sup>3</sup>, Mnozhdina E.G.<sup>4</sup>, Groshenkova E.V.<sup>5</sup>, Krivtsov N.V.<sup>6</sup>, Gurianova N.I.<sup>7</sup>, Daltsaeva M.K.<sup>8</sup>, Fomina N.S.<sup>9</sup>

## Collective immunity against poliomyelitis among the population of several regions of Russia

<sup>1</sup>Chumakov Institute of Poliomyelitis and Viral Encephalitis, 142782, Moscow, Russia; <sup>2</sup>Center of Hygiene and Epidemiology of Voronezh Region, 394038, Voronezh, Russia; <sup>3</sup>Center of Hygiene and Epidemiology of Kaluga Region, 248018, Kaluga, Russia; <sup>4</sup>Center of Hygiene and Epidemiology of Moscow Region, 141014, Mytisci, Russia; <sup>5</sup>Center of Hygiene and Epidemiology of Yaroslavl Region, 150054, Yaroslavl, Russia; <sup>6</sup>Center of Hygiene and Epidemiology of Republic of Altai, 649002, Gorno-Altaysk, Russia; <sup>7</sup>Center of Hygiene and Epidemiology of Republic of North Ossetia – Alania, 362021, Vladikavkaz, Russia; <sup>8</sup>Center of Hygiene and Epidemiology of Chechen Republic, 364038, Grozny, Russia; <sup>9</sup>Center of Hygiene and Epidemiology of Nenets Autonomous Area, 166000, Naryan Mar, Russia

The goal of this work was to estimate the collective immunity against poliomyelitis among the population of 8 regions and republics of Russia. The rates of the collective immunity against poliomyelitis allow the polio vaccination quality to be estimated and the population protection rate to be simultaneously demonstrated. A total of 8 regions (2138 people) were tested. The antibodies to the polioviruses of 1-3 types were determined against the vaccine Sabin strains in the neutralization test in the RD cell line. As a result, we found that vaccination against poliomyelitis in all observed regions was maintained at the required high level. Thus, the number of people with antibodies to the polio in most regions and age groups approximates or reaches 100%, while GMT is also high. This work demonstrated the necessity of the continuation of vaccination against poliomyelitis and control over collective immunity.

Key words: poliomyelitis; collective immunity among vaccinated; vaccination.

Citation: *Voprosy virusologii*. 2015; 60(4): 37–40. (In Russ.)

For correspondence: Vladimir Seybil, MD, PhD; e-mail: [institute@poliomyelit.ru](mailto:institute@poliomyelit.ru)

Received 16.09.14

Для корреспонденции: Сейбиль Владимир Борисович, канд. мед. наук; e-mail: [institute@poliomyelit.ru](mailto:institute@poliomyelit.ru)