

ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ / ORIGINAL

УДК 619:616.9-036.22(063)

<http://dx.doi.org/10.22328/2077-9828-2020-12-1-47-57>

ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ВИЧ-1 В АЛТАЙСКОМ КРАЕ: ДАЛЬНЕЙШЕЕ РАСПРОСТРАНЕНИЕ ВАРИАНТА CRF63_02A1 ПО ТЕРРИТОРИИ ЗАПАДНОЙ СИБИРИ

©¹Е. В. Казеннова, ¹А. А. Антонова, ¹Е. Н. Ожмегова, ²Э. Р. Демьяненко, ²М. В. Минакова, ²О. В. Белоусова,
¹К. Б. Громов, ¹М. Р. Бобкова

¹Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н. Ф. Гамалеи, Москва

²Алтайский краевой центр по профилактике и борьбе со СПИДом и инфекционными заболеваниями, г. Барнаул

Цель исследования: изучение генетического профиля ВИЧ-1 в Алтайском крае и исследование лекарственной резистентности вируса в регионе. *Материалы и методы.* В исследовании была использована коллекция образцов от 82 ВИЧ-инфицированных лиц, проживающих в Алтайском крае, собранная с их информированного согласия в 2017 г. Нуклеотидные последовательности области гена *pol*, кодирующей протеазу и часть обратной транскриптазы ВИЧ-1, получали методом *in house* путем прямого секвенирования амплифицированных фрагментов гена *pol*. Генотипирование, филогенетический и рекомбинантный анализ проводили с использованием программ HIVdbProgram: Sequence Analysis, COMET HIV-1, REGA HIV-1 Subtyping Tool (V3), MEGA 5.05, RIP и jpHMM. *Результаты и их обсуждение.* Показано, что в Алтайском крае доминирующим генотипом в регионе на 2017 г. (период сбора образцов) была циркулирующая рекомбинантная форма CRF63_02A1 (61%), суб-субтип А6 составлял 33%, на остальные варианты, такие как В, G, URF, пришлось 6%. По данным филогенетического анализа нуклеотидных последовательностей, рекомбинантная форма CRF63_02A1 аналогична таковым, циркулирующим в Сибири и на Дальнем Востоке России. Все штаммы ВИЧ-1 субтипа А принадлежат варианту А6, доминирующему в России. Анализ с применением программы RIP позволил выявить три уникальные рекомбинантные формы (URF), образованные вариантами CRF63_02A1 и А6. Мутации лекарственной устойчивости были зарегистрированы у 8 из 21 пациента (8/21, 38%), получающих антиретровирусную терапию. Условный показатель первичной лекарственной устойчивости в популяции составил 5,1%. *Заключение.* В настоящее время происходит процесс смены доминирующего штамма на CRF63_02A1 в Алтайском крае, где еще 13 лет назад основным был вариант ВИЧ-1 А6 (IDU-A).

Ключевые слова: ВИЧ-1, субтипы ВИЧ, филогенетический анализ, мутации лекарственной устойчивости

Конфликт интересов: авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования: Казеннова Е.В., Антонова А.А., Ожмегова Е.Н., Демьяненко Э.Р., Минакова М.В., Белоусова О.В., Громов К.Б., Бобкова М.Р. Генетический анализ ВИЧ-1 в Алтайском крае: дальнейшее распространение варианта CRF63_02A1 по территории Западной Сибири // *ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии*. 2020. Т. 12, № 1. С. 47–57, DOI: <http://dx.doi.org/10.22328/2077-9828-2020-12-1-47-57>.

Контакт: Казеннова Елена Валерьевна, kazennova@rambler.ru

GENETIC ANALYSIS OF HIV-1 IN THE ALTAI KRAY: THE FURTHER SPREAD OF THE CRF63_02A1 VARIANT IN WESTERN SIBERIA

©¹Е. В. Kazennova, ¹А. А. Antonova, ¹Е. Н. Ozhmegova, ²Э. Р. Demyanenko, ²М. В. Minakova, ²О. В. Belousova,
¹К. В. Gromov, ¹М. Р. Bobkova

¹National Research Center of Epidemiology and Microbiology named after honorary academician N. F. Gamalei, Moscow, Russia

²Altai regional center for prevention and control of AIDS and infectious diseases, Barnaul, Russia

The aim of this study was to characterize HIV-1 genetic strains currently circulating in Altai Kray (Western Siberia) and to analyze the HIV resistance on this territory. Materials and methods. Blood samples were collected, with informed consent, in 2017 from 82 HIV infected persons living in Altai Kray. Sequences of *pol* gene fragments coding protease and part of reverse transcriptase were obtained by *in house* system and Sanger sequencing. Genotyping, phylogenetic and recombinant analyses were carried out by HIVdbProgram: Sequence Analysis, COMET HIV-1, REGA HIV-1 Subtyping Tool (V 3.0), MEGA 5.05, RIP and jpHMM.

Results and discussion. The results of genotype analysis revealed that the circulating recombinant form CRF63_02A1 dominated in Altai Kray (61%), subtype A was identified in 33%, the remaining subtypes, such as B, G, URF, accounted for 6%. According to phylogenetic analysis results, CRF63_02A1 sequences formed the common branch with nucleotide sequences of strains found in other regions of Siberia and Far East. All of HIV-1 variants belonging to subtype A clustered together with nucleotide sequences of A6 dominating in Russia. RIP analysis allowed to identify three unique recombinant forms (URFs), formed by CRF63_02A1 and A6. Drug resistance mutations were identified in 8 of 21 ART patients (8/21, 38%). The prevalence of drug resistance mutations in naïve patients equaled to 5,1%. **Conclusion.** Currently, the process of changing the dominant strain to CRF63_02A1 is ongoing in the Altai Kray, where 13 years ago the main variant was HIV sub-subtype A6 (IDU-A).

Key words: HIV-1, HIV subtypes, drug resistance mutations, phylogenetic analyses

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

For citation: Kazennova E.V., Antonova A.A., Ozhmegova E.N., Demyanenko E.R., Minakova M.V., Belousova O.V., Gromov K.B., Bobkova M.R. Genetic analysis of HIV-1 in the Altai Kray: the further spread of the CRF63_02A1 variant in Western Siberia // *HIV infection and immunosuppression*. 2020. Vol. 12, No. 1. P. 47–57. DOI: <http://dx.doi.org/10.22328/2077-9828-2020-12-1-47-57>.

Contact: Kazennova Elena Valerevna, kazennova@rambler.ru

Введение. С момента проникновения в 1995 г. в среду потребителей инъекционных наркотиков (ПИН) и их половых партнеров варианта ВИЧ-1 субтипа А, названного в России IDU-A (injecting drug users), или A-FSU (former Soviet Union) — в зарубежной литературе, началось стремительное распространение этого штамма вируса по всей стране. Позднее варианты ВИЧ IDU-A, циркулирующие на территории бывшего СССР, были объединены в отдельную монофилетическую группу — суб-субтип А6 [1]. В начале 2000-х годов вариант IDU-A вышел за пределы данной группы риска и стал распространяться гетеросексуальным путем по всей территории Российской Федерации [2]. В этот период времени на территории страны циркулировали варианты ВИЧ и других субтипов, но частота их встречаемости была невелика, они не играли сколько-нибудь значимой роли в эпидемии ВИЧ-инфекции и крайне редко попадали в поле зрения исследователей.

С 2005 г. в разных регионах страны при генотипировании ВИЧ все чаще стали выявлять не-А варианты вируса. Так, в 2006 г. в Новосибирске впервые была выделена и описана новая рекомбинантная форма, родительскими штаммами которой являлись варианты ВИЧ суб-субтипа А6, доминирующего в РФ, и рекомбинантной формы CRF02_AG, циркулировавшей на тот момент как в странах Центральной Азии, так и в Сибири [3, 4]. В дальнейшем этот вариант ВИЧ, получивший международное название CRF63_02A1, стал стремительно распространяться по территории Сибири.

Его распространенность в Новосибирской [5], Томской [6], Кемеровской областях [7], Еврейской

Автономной области [8] доходила до 83%, а в 4,3% случаев выявляли уникальные рекомбинантные формы (URFs) ВИЧ-1 следующего поколения, родителями которых являлись ВИЧ-1 суб-субтипа А6 и CRF63_02A1 [9]. Потребление инъекционных наркотиков внутривенно явилось основным путем передачи CRF63_02A1 в этих регионах. Были выявлены случаи инфицирования рекомбинантным вирусом CRF63_02A1 и в Дальневосточном федеральном округе [10]. На Европейской территории России этот штамм практически не встречался. Исследования, проведенные в 2013 г. в Томске, показали, что среди вновь инфицированных лиц превалировал вариант ВИЧ CRF63_02A1 [6].

Тем не менее даже на территории Западной Сибири CRF63_02A1 распространяется неравномерно. Так, на юге Западной Сибири, в Тюмени, не было выявлено ни одного случая инфицирования вирусами этой рекомбинантной формы [11]. Таким образом, можно предположить, что Новосибирск явился источником распространения, преимущественно через потребителей инъекционных наркотиков, нового варианта вируса в близлежащие города Западной Сибири (Томск — 258 км от Новосибирска, Кемерово — 258 км от Новосибирска), в то время как в более отдаленных регионах этот вариант почти не встречается (Тюмень — 1281 км). Все вышесказанное и определило выбор региона — Алтайский край, г. Барнаул, расположенный на расстоянии 233 км от Новосибирска, для молекулярно-эпидемиологического исследования ВИЧ-инфекции. В 2004 г. мы уже проводили генетический анализ вариантов ВИЧ, циркулирующих в Алтайском крае; на тот

момент в регионе, как и в стране в целом, доминировал вариант ВИЧ-1 IDU-A, или A6, с частотой более 98% [12].

Исследования генетических вариантов ВИЧ чаще всего проводят, используя последовательность гена *pol*, поскольку именно эта область генома, кодирующая ферменты ВИЧ, служит объектом анализа мутаций лекарственной устойчивости и по этой причине наиболее широко представлена в базах данных и соответствующих им инструментах, предназначенных для субтипирования ВИЧ.

В текущей клинической практике в России анализ генотипа ВИЧ обычно назначают пациентам, испытавшим неуспех антиретровирусной терапии (АРТ) с целью обоснованного подбора новых эффективных схем терапии. Поводом для назначения генотипирования ВИЧ в таких случаях становится повторная регистрация вирусной нагрузки, превышающей пороговый уровень.

Другой целью этого вида анализа, которая пока не реализуется на национальном уровне, является эпидемиологический мониторинг первичной лекарственной устойчивости ВИЧ, который должен проводиться среди пациентов, не получающих лечения (наивных). Целью такого анализа является оценка распространенности устойчивых штаммов ВИЧ, вызывающих заражение. Интерпретацию результатов такого анализа осложняют два феномена — «вымывание» мутаций и генетический полиморфизм ВИЧ.

Причина «вымывания» мутаций связана с тем, что мутантные лекарственно-устойчивые вирусы часто обладают ослабленной репликативной способностью, и после заражения таким вирусом со временем в отсутствие селективного фактора (лекарственного препарата) происходит замещение устойчивых вирусов «дикими» — чувствительными, в результате чего мутации лекарственной устойчивости выявить становится невозможно. Таким образом, анализ мутаций, проведенный у наивных пациентов с неизвестным сроком заражения, не всегда дает возможность выявить существующие мутации, а на популяционном уровне показатель первичной устойчивости всегда оказывается несколько заниженным по отношению к истинно передающейся устойчивости, определяемой у недавно инфицированных лиц. Тем не менее показатель распространенности мутаций лекарственной устойчивости у пациентов перед началом АРТ является важнейшим эпидемиологическим критерием, при этом ВОЗ рекомендует обязатель-

ный анализ генотипа ВИЧ перед началом лечения всем пациентам, если региональный показатель достигает 10%.

Другая проблема связана с тем, что мутации в составе генома ВИЧ, которые всегда возникают случайным образом, могут случайно, не будучи связаны с лечением, образоваться у вируса в позициях гена *pol*, ассоциированных с лекарственной устойчивостью. Если в ходе последующей эволюции такая мутация не наносит вирусу особого вреда, она может закрепиться в потомстве и войти в последовательность генома того или иного генетического варианта ВИЧ уже на «постоянной основе», отражая полиморфизм (разнообразие) вируса. Вопрос о значимости таких полиморфных мутаций для чувствительности ВИЧ к препаратам остается до сих пор открытым, и именно поэтому полиморфизмы не учитывают при оценке уровня передающейся устойчивости. Перечень учитываемых (надзорных — surveillance drug resistance mutations, SDRMs) мутаций периодически обновляется, а для их практического учета разработан специальный on-line инструмент — Calibrated Population Resistance tool (CPR, <http://cpr.stanford.edu/cpr.cgi>) [13].

Цель исследования: изучение генетических вариантов ВИЧ-1, циркулировавших в Алтайском крае в 2017 г., на основе последовательностей гена *pol*, а также анализ мутаций лекарственной резистентности вируса у пациентов, получающих и не получающих антиретровирусную терапию.

Материалы и методы исследования. В исследовании была использована коллекция мононуклеарных клеток периферической крови (МКПК) и/или плазмы крови, собранная в 2017 г. от 82 ВИЧ-инфицированных лиц, проживающих в Алтайском крае. Показатели вирусной нагрузки были получены из медицинских карт пациентов и составляли от 310 до 2 100 000 копий РНК/мл. Все пациенты были зарегистрированы в Алтайском краевом центре СПИД в г. Барнаул с диагнозом ВИЧ-инфекция в период с 2001 по 2017 г., из них 21 на момент исследования получал антиретровирусную терапию.

Выявление факторов риска, возможных мест заражения, эпидемиологических связей с другими ВИЧ-инфицированными лицами проводили путем опроса пациентов при сборе эпидемиологического анамнеза. Кроме того, регистрировали возраст, пол пациента, дату забора клинического материала, дату и регион постановки диагноза «ВИЧ-инфекция». Сведения о применении/непримене-

нии пациентом АРВ-препаратов получали, руководствуясь записями в амбулаторных картах. Весь полученный клинический материал использовали с информированного согласия пациентов, на основании одобрения Комитета по биомедицинской этике на базе ФГБУ «НИЦЭМ им. Н. Ф. Гамалеи» Минздрава России на проведение исследований (протокол № 2 от 04.02.2016).

Выделение геномной ДНК, включающей интегрированную провирусную ДНК, из клеток крови ВИЧ-инфицированных пациентов проводили методом высаливания [14].

Генотипирование вируса от ВИЧ-инфицированных пациентов из Алтайского края проводили путем анализа нуклеотидных последовательностей области гена *pol*, кодирующей протеазу и часть обратной транскриптазы ВИЧ-1, полученных методом *in house*, путем прямого секвенирования амплифицированных фрагментов гена *pol* с координатами 2133–3251 (координаты даны для варианта ВИЧ-1 HXB2, регистрационный номер GenBank K03455), как описано ранее [4]. Определение нуклеотидных последовательностей выполняли с использованием генетического анализатора ABI Prism 3130 (Applied Biosystems, США). Анализ мутаций лекарственной устойчивости (ЛУ) проводили с использованием базы данных Стэнфордского университета (<http://hivdb.stanford.edu/>).

Определение субтипа ВИЧ-1 проводили с использованием on-line референс-программ HIVdb version 8.8, представленную на сайте Стэнфордского университета (<http://hivdb.stanford.edu>), COMET HIV-1 (<http://comet.retrovirology.lu/>) [15] и REGA HIV-1 Subtyping Tool (V3) (<http://dbpartners.stanford.edu:8080/RegaSubtyping/stanford-hiv/typingtool/>) [16].

Для выявления и анализа рекомбинантных форм ВИЧ наряду с REGA HIV-1 Subtyping Tool (V3) применяли программы jpHMM (<http://jphmm.gobics.de/>) [17] и RIP (Recombination Identification Programs, www.hiv.lanl.gov) [18].

Поиск гомологичных последовательностей ДНК осуществляли с помощью семейства компьютерных программ BLAST (Basic Local Alignment Search Tool), которые предназначены для сравнения изучаемой нуклеотидной последовательности с базой данных последовательностей нуклеиновых кислот и поиска наиболее близких к ней (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/>) [19].

Выравнивание нуклеотидных последовательностей методом ClustalW и филогенетический анализ

нуклеотидных последовательностей методом «ближайших соседей» проводили с помощью пакета программ MEGA v.5.05, доступного на сайте <http://megasoftware.net/> [20]. Уровень бутстрэп-поддержки оценивался при числе повторов 1000.

Результаты и их обсуждение. Последовательности провирусной ДНК ВИЧ были получены в 82 образцах пациентов, из которых 26% (21/82) на момент забора крови находились на лечении антиретровирусными препаратами не менее 3 мес, остальные (наивные) никогда не получали антиретровирусной терапии.

Возраст пациентов варьировал от 30 до 46 лет; соотношение мужчин и женщин в исследуемой когорте составило 1,6:1,0.

Основным путем передачи ВИЧ в обследуемой группе оказался инъекционный, потребители инъекционных наркотиков (ПИН) составили большинство — 61% (50/82). Гетеросексуальным путем заразились 35% (29/82), гомосексуальным — 4% (3/82).

Настоящая выборка отражает реальную картину распределения ВИЧ-инфицированных в Алтайском крае по путям передачи инфекции. По данным Алтайского краевого Центра по профилактике и борьбе со СПИДом и инфекционными заболеваниями, «за все годы регистрации ВИЧ-инфекции (1998–2019 гг.), парентеральным путем, при немедленном введении наркотиков, инфицировалось 62,5% больных ВИЧ-инфекцией, половым — 36,4%, перинатальным — 1,1%» (<http://www.alt-ids.alt.ru/statistica/stat.php>).

По данным генотипирования образцов по области гена *pol*, кодирующей протеазу и часть обратной транскриптазы, 45% (37/82) ВИЧ-инфицированных лиц было заражено вирусом CRF63_02A1, 37% (30/82) — вирусом субтипа А, два человека — вирусом субтипа В и один — вариантом ВИЧ-1 субтипа G. Для 11 образцов (13%, 11/82) — BRN015, BRN025, BRN039, BRN042, BRN050, BRN097, BRN103, BRN123, BRN126, BRN136, BRN139 применение on-line программ для определения генотипа ВИЧ дало противоречивые результаты, например, «recombinant of 02_AG, A1» (REGA), но «A1 (check for 63_02A1)» (Comet). Для более точного определения субтипа вирусов, а также выяснения происхождения и возможного родства вариантов ВИЧ мы применили филогенетический анализ.

В качестве референс-штаммов для филогенетического анализа из Genbank (<http://www.hiv.lanl.gov>)

были выбраны последовательности субтипов А6 и CRF63_02A1 из России, последовательность EU861977 (A-or), которая, по данным литературы (Riva, 2008 #839), является наиболее близкородственной варианту IDU-A [21], и другие последовательности ВИЧ разных субтипов. В результате анализа стало очевидно, что все образцы с неопределенным генотипом формировали общую ветвь с таковыми варианта CRF63_02A1. Последовательности ВИЧ-1 субтипа А образцов из Алтайского края объ-

единялись с вариантами А6 из России (рисунок). Таким образом, варианты ВИЧ, выделенные в настоящем исследовании, кластеризовались между собой и с референс-штаммами известных субтипов и рекомбинантных форм и поддержаны бутстрэп-значением не менее 70%.

Вместе с тем на филогенетическом дереве четко выявлялась отдельная ветвь, сформированная шестью последовательностями — BRN007, BRN0012, BRN021, BRN061, BRN0075 и BRN108. Мы предпо-

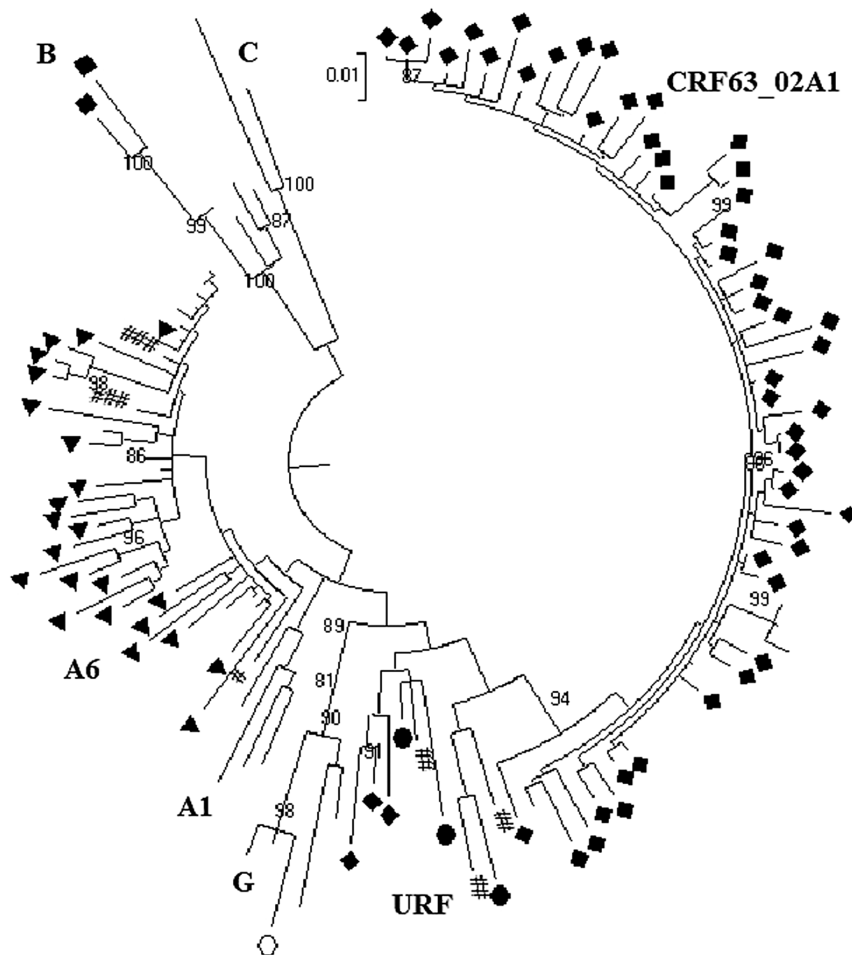


Рисунок. Филогенетический анализ нуклеотидных последовательностей гена *pol* ВИЧ-1, кодирующих протеазу и часть обратной транскриптазы (координаты 2519–3271 относительно генома референсного штамма HXB2), образцов вируса из Алтайского края. Референс-последовательности ВИЧ-1, указанные в статье — # EU861977 (A-or), ## — KX574398, KX574397, MG211649 — URF ВИЧ-1 из Сибири, ### — KM247291, JX290228 — варианты суб-субтипа А6 ВИЧ-1 из Сибири. Черными ромбами отмечены варианты CRF63_02A1, черными треугольниками — варианты суб-субтипа А6, черными кружками — варианты URF, черными квадратами — варианты субтипа В, прозрачным кружком — вариант субтипа G из Алтайского края. Буквы на полях — субтипы и рекомбинантные формы ВИЧ. Цифры у основания ветвей указывают частоту, с которой данные последовательности оказывались на одной ветви в 1000 независимых построениях.

Figure. Phylogenetic analysis of the nucleotide sequences of the HIV-1 *pol* gene encoding the protease and part of the reverse transcriptase (coordinates 2519–3271 relative to the genome of the reference HXB2 strain) of virus samples from the Altai territory. The reference sequences of HIV-1 specified in the article are # EU861977 (A-or), ## — KX574398, KX574397, MG211649-URF HIV-1 from Siberia, ### — KM247291, JX290228-variants of the A6 sub-subtype of HIV-1 from Siberia. Black diamonds mark variants of CRF63_02A1, black triangles — variants of sub-subtype A6, black circles –variants of URF, black squares-variants of subtype B, transparent circle-variant of subtype G from the Altai territory. The letters in the margins are subtypes and recombinant forms of HIV. The numbers at the base of the branches indicate the frequency at which the sequence data appeared on a single branch in 1000 independent builds

ложили, что эти варианты могут быть уникальными формами ВИЧ-1 (URFs), образованными в результате рекомбинации вирусов субтипов CRF63_02A1, CRF02_AG и A6. Данные структуры встречаются в Сибири и описаны в литературе [6, 7, 22].

Для выявления возможной мозаичной структуры мы проанализировали указанные последовательности с применением программ REGA, RIP и jпHMM; признаки рекомбинации были выявлены лишь при использовании программы RIP для образцов BRN007, BRN0012, BRN021 и BRN108, остальные программы идентифицировали эти последовательности как субтип A без разделения на суб-субтипы.

Тогда с помощью пакета программ BLAST для каждого образца мы выбрали из Genbank нуклеотидные последовательности с максимальной гомологией. Почти все образцы были гомологичны по области гена *pol* как вариантам суб-субтипа A6, так и вариантам URF, образованным вариантами CRF63_02A1 и A6. Включив некоторые гомологичные анализируемым образцам последователь-

субтипирования близки к субтипу A6, но на филограмме ближе к URF. Очевидно, что для более детального описания уникальных рекомбинантных форм необходим анализ более протяженных фрагментов, нежели в нашем случае (в среднем 1100 пар нуклеотидов), а максимально достоверными будут результаты анализа полноразмерных геномов ВИЧ.

После установления генотипа ВИЧ в образцах из Алтайского края мы проанализировали распределение генетических вариантов по группам риска заражения (табл. 1). Как следует из представленных данных, доминирующим генотипом в регионе на 2017 г. (период сбора образцов) была циркулирующая рекомбинантная форма CRF63_02A1 (61%), суб-субтип A6 составлял 33%, на остальные варианты, такие как B, G, URF, пришлось 6%. Таким образом, генетический профиль ВИЧ на территории Алтайского края при молекулярно-эпидемиологическом анализе схож с таковым для других регионов Западной Сибири, где встречаются и даже доминируют варианты CRF63_02A1 [7, 10].

Таблица 1

Распределение генетических вариантов ВИЧ-1 по группам риска заражения в Алтайском крае

Table 1

Distribution of HIV-1 genetic variants by risk groups in the Altai Territory

Путь передачи	Субтипы					Всего
	A6	CRF63	URF*	B	G	
ПИН	10	36	3	1	—	50 (62%)
Гетеро	15	13	—	—	1	29 (35%)
МСМ	2	—	—	1	—	3 (3%)
	27 (33%)	49 (61%)	3 (3%)	2 (2%)	1 (1%)	82 (100%)

* Образцы, подтвержденные методом филогенетического анализа и с использованием программы RIP.

* Samples confirmed by phylogenetic analysis and using the RIP program.

ности, такие как KX574398, KX574397 — из Кемерово, MG211649 — из Томска (уникальные рекомбинантные формы (URF), родительскими штаммами которых были CRF63_02A1 и A6), KM247291, 10RU6841 — A6 из Иркутска и Новосибирска соответственно, в филогенетический анализ в качестве референс-штаммов, мы построили филогенетическое дерево, которое позволило, насколько возможно, определиться с генотипированием образцов BRN007, BRN0012, BRN021, BRN061, BRN0075, BRN108 (на филограмме отмечены черными кружками).

Как следует из представленных данных (см. рис.), штаммы BRN021, BRN061 и BRN007, скорее всего, являются URFs, образованными вариантами CRF63_02A1 и A6, а остальные по данным on-line

Варианты ВИЧ суб-субтипа A6 по частоте встречаемости в этом регионе значительно уступают циркулирующим рекомбинантным формам, хотя, как уже говорилось ранее, в начале 2000-х годов в Алтайском крае доминировал, как и по стране в целом, вариант IDU-A (суб-субтип A6) [12].

Согласно эпидемиологическим данным, в анализируемой группе пациентов самое раннее инфицирование вирусом варианта CRF63_02A1 было зафиксировано в 2006 г., то есть данный штамм появился на территории давно и начал распространяться, циркулируя в популяции одновременно с традиционным вариантом вируса суб-субтипа A6. Обращает на себя внимание тот факт (см. табл. 1), что основной группой риска заражения вирусом рекомбинантной формы оказались потребители

инъекционных наркотиков (36/49, 73%), в то время как вирус суб-субтипа А6 преимущественно распространялся половым, прежде всего, гетеросексуальным путем (17/27, 63%). Лишь в одном случае зарегистрирован гомосексуальный путь передачи вируса варианта А6 у пациента BRN020, что еще раз подтверждает наблюдаемый повсеместно факт распространения этого варианта за пределами группы риска ПИН, где он был ранее обнаружен, — в среде MSM [23]. Скорость распространения ВИЧ среди потребителей инъекционных наркотиков внутривенно существенно выше, чем при половом пути передачи, так как вирус попадает непосредственно в кровоток со следами крови в общей игле. Вероятно, это и объясняет столь стремительное распространение штамма CRF63_02A1 в группе риска ПИН, а следовательно, в исследуемом регионе.

Из всей анализируемой группы пациентов только два пациента — BRN036 (ПИН) и BRN073 (MSM/бисексуал) (на филограмме отмечены черными квадратами) были инфицированы ВИЧ субтипа В, причем на филогенетическом древе обе последовательности кластеризуются вместе (поддержка 99%), что свидетельствует о высокой степени их гомологии, а также с последовательностью от пациента, инфицированного при гетеросексуальном контакте (FJ822088_V). Таким образом, можно было предположить, что указанные пациенты из Алтайского края эпидемиологически связаны между собой и инфицированы вирусом ВИЧ субтипа В, циркулирующего и доминирующего в странах Европы и Америки среди лиц, заразившихся половым путем. Тем не менее данные эпидемиологического расследования не подтвердили прямых контактов пациентов BRN036 и BRN073, при этом оба пациента указывали на половые контакты с малознакомыми партнершами, через которых, возможно, и произошло инфицирование.

Образец BRN125 на филогенетическом древе кластеризовался с вариантами субтипа G африканского происхождения.

Сопоставив результаты филогенетического анализа и генотипирования ВИЧ-инфицированных пациентов из Алтайского края, можно заключить, что на этой территории среди ПИН преимущественно распространена рекомбинантная форма ВИЧ-1 CRF63_02A1, следующим по частоте встречаемости является вариант суб-субтипа А6, а также выявлены уникальные рекомбинантные формы, образованные вышеуказанными вариантами ВИЧ; встречаются также и вирусы субтипов В и G.

Анализ первичной устойчивости у пациентов, не получавших АРТ (74%, 61/82), показал, что у трех наивных пациентов — BRN028, BRN098 и BRN139 (3/61, 4,9%) присутствует мутация лекарственной устойчивости K103N, входящая в список надзорных мутаций [24] и ассоциированная с устойчивостью к препаратам класса ННИОТ — эфавиренцу (EFV) и неврапину (NVP). Обнаружение таких мутаций у наивных пациентов свидетельствует о заражении устойчивым вариантом вируса и препятствует использованию указанных препаратов в схеме АРТ.

Пациенты BRN028 и BRN139 заразились ВИЧ достаточно давно — в 2014 и 2011 гг. соответственно, а BRN098 — в 2016 г., однако присутствие у них указанной мутации вполне объяснимо. Замена K103N практически не влияет на эффективность размножения (репликативные свойства) вируса [25, 26]. Следствием этого становится способность мутантного штамма, содержащего мутацию K103N, длительно персистировать в организме инфицированного человека (в среднем 5,3 года) [27].

Объем исследований не дает возможности достоверно оценить уровень первичной устойчивости в обследованном регионе, однако полученный условный показатель 4,9% не дает оснований для внедрения обязательного анализа генотипа ВИЧ перед началом лечения.

Помимо основной мутации K103N, у наивных пациентов были выявлены две полиморфные мутации в обратной транскриптазе. Одна из них — мутация A62V (29,5%; 18/61), которая обычно выявляется в комбинации с первичными мутациями K65R или Q151M на фоне лечения нуклеозидными препаратами, другая — E138A (4,9%; 3/61), ассоциированная с устойчивостью к рилпиврину (RPV) и имеющая «низкий вес» (биологический cutoff — показатель степени устойчивости мутантного вируса к RPV — составляет 2,0 [28]).

Среди пациентов, в геноме вируса которых была выявлена A62V, 15 были инфицированы вирусом суб-субтипа А6, а три — CRF63_02A1. Ранее было показано, что для вариантов суб-субтипа А6, распространенных на территории стран бывшего СССР, единичная замена A62V является мутацией полиморфизма и встречается с частотой 63% [29]. Эта мутация может также часто встречаться у рекомбинантных форм ВИЧ-1, имеющих в своем составе последовательности вируса А6. Для всех других генетических вариантов ВИЧ эта замена неpolиморфная, но ее вклад в развитие резистент-

ности невелик (5 баллов по HIVdb), и присутствие только этой мутации не ограничивает применения препаратов класса НИОТ.

Замена E138A в обратной транскриптазе выявлена у трех пациентов — BRN015, BRN038 и BRN138, не получавших терапию. Эта мутация является полиморфной (<https://hivdb.stanford.edu/hivdb/by-mutations/>) и встречается с разной частотой в зависимости от субтипа (субтип С — 6%, субтип В — 2%, субтипа G — 1,7%) [28]. Ранее нами было показано, что у пациентов, инфицированных вирусом А6, эта мутация встречается в 6–8% случаев [29].

Все три образца вируса — BRN015, BRN038, BRN138, несущих мутацию E138A, содержали вариант ВИЧ CRF63_02A1, обратная транскриптаза которого представлена последовательностью субтипа G. Лечения RPV эти пациенты никогда не получали, поэтому нами был сделан вывод о полиморфном происхождении этой мутации. Как уже упоминалось, влияние предсуществующих мутаций на эффективность терапии недостаточно изучено, поэтому судить о возможности применения RPV у указанных пациентов пока нельзя.

У пациентов BRN023 и BRN039, не получающих АРТ, были выявлены дополнительные замены V179E и V108I, соответственно, которые могут незначительно влиять на чувствительность к ННИОТ и не требуют отказа от использования препаратов этого класса в первой линии терапии.

Значительно большее разнообразие продемонстрировал анализ мутаций лекарственной устойчивости у пациентов, получавших на момент забора крови антиретровирусную терапию (21/82) (табл. 2).

Показатель вирусной нагрузки у них составлял от 1100 до 1 600 000 копий/мл, что свидетельствовало о вирусологической неэффективности лечения. Тем не менее у 13 из них (13/21, 62%) мутаций не выявили, что с большой вероятностью указывает на низкую приверженность; вирусная нагрузка в этой группе колебалась от 6900 до 1 600 000 копий РНК/мл.

В группе из 8 пациентов, имеющих мутации, вирусная нагрузка была закономерно, хотя и недостоверно, ниже и составляла от 1100 до 410 000 копий РНК/мл. Данные об обнаруженных в этой группе мутациях представлены в табл. 2.

Среди мутаций к НИОТ наиболее часто встречалась M184V (6/8, 75%), связанная с устойчивостью к ламивудину/эмтрицитабину (ЗТС/ФТС). Заметим, что эта мутация способна повышать чувствительность к другим препаратам группы

Таблица 2

Мутации лекарственной устойчивости ВИЧ-1, выявленные среди пациентов из Алтайского края, получающих АРТ (n=8)

Table 2

HIV-1 drug resistance mutations among patients from Altai Krai receiving ART (n=8)

Замены	Количество геномов
НИОТ	
M184V	6
K70R	2
D67N	1
L74V	1
ННИОТ	
L100I	1
K101E	1
K103N	1
V106I	1
E138G	2
Y181I	1
Y181C	1
G190S	1

НИОТ — азидотимидину (AZT), тенофовиру (TDF) и ставудину (d4T), поэтому при ее возникновении схема, включающая эти препараты, в целом сохраняет свою активность.

Мутации D67N и K70R, особенно в сочетании, также заметно снижают чувствительность к AZT и d4T. Все остальные мутации, хотя и несколько снижают чувствительность к препаратам этого класса, но в эквиваленте баллов, представленных в таблицах HIVdb, не превышают 15–30, и препараты могут быть использованы для дальнейшего лечения.

Среди мутаций к ННИОТ с выраженной устойчивостью ассоциированы L100I, K103N, Y181I, Y181C и G190S; мутации K101E, V106I и E138G, будучи единичными, имеют «низкий вес» и не являются препятствием для использования препаратов этого класса.

К ингибиторам протеазы мутаций не выявлено.

Следует заметить, что основными причинами замены схем лечения явились отсутствие препаратов на медицинском складе. Так, например, пациент BRN094 начал получать АРТ с 2013 г., за время лечения было применено девять схем терапии: ABC+ЗТС, DRV, RTV; ABC+ЗТС, RAL; AZT, EFV, ABC ABC+ЗТС; DRV, RTV ABC+ЗТС, RAL; ABC+ЗТС, ETR; ABC+ЗТС, DRV, RTV; ABC+ЗТС, LPV+RTV; ABC+ЗТС, RAL, действующих с переменным успехом.

Вирусологический неуспех был отмечен только в одном случае, при этом генотипирование провели пациенту только в ходе настоящего исследования в 2018 г., и на фоне последней схемы терапии выявлены мутации ЛУ к НИОТ — L74V, M184V и к ННИОТ — E138G.

Заключение. Полученные результаты молекулярно-эпидемиологического анализа ВИЧ-инфекции в Барнауле подтверждают данные о том, что в Западной Сибири есть еще один регион, где доминирует циркулирующая рекомбинантная форма ВИЧ-1 CRF63_02A1 (61%). Вторым по частоте встречаемости является ВИЧ-1 суб-субтипа А6 (33%). Таким образом, мы наблюдаем в настоящее время процесс смены доминирующего штамма в регионе, где еще 13 лет назад основным был вариант ВИЧ-1 суб-субтипа А6 (IDU-A). Кроме того, выявлены уникальные рекомбинантные формы (URF), образованные вариантами ВИЧ CRF63_02A1 и А6. На территории Алтайского края встречаются также вирусы субтипов В и G.

Мутации ЛУ были зарегистрированы у 8 из 21 пациента (8/21, 38%), получающего антиретровирусную терапию на АРТ. Оставшаяся часть этих пациентов, по-видимому, была недостаточно привержена курсу лечения. Профиль мутаций носит типичный характер и соответствует схемам применяемой терапии.

Условный показатель передающейся устойчивости в популяции наивных пациентов составил 4,9%. Отмечены полиморфные мутации E138A и A62V, частота встречаемости которых соответствует ранее зарегистрированной в России.

Полученные нуклеотидные последовательности депонированы в Genbank с регистрационными номерами MK612415-MK612496 (<http://www.hiv.lanl.gov/components/sequence/HIV/search/search.html>).

* * *

Исследование выполнено с привлечением средств гранта Российского научного фонда (проект № 15-15-00050П).

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

- Foley B.T., Leitner T., Paraskevis D., Peeters M. Primate immunodeficiency virus classification and nomenclature: Review // *Infect. Genet. Evol.* 2016. Vol. 46. P. 150–158.
- Бобков А.Ф., Казеннова Е.В., Селимова Л.М., Ханина Т.А., Ладная Н.Н., Бобкова М.Р., Кравченко А.В., Рябов Г.С., Суханова А.Л., Буравцова Е.В., Покровский В.В., Weber J.N. Молекулярно-вирусологические особенности эпидемии ВИЧ-инфекции в России и других странах СНГ // *Вестник Российской академии медицинских наук.* 2003. № 12. С. 83–85. [Bobkov A.F., Kazennova E.V., Selimova L.M., Khanina T.A., Ladnaia N.N., Bobkova M.R., Kravchenko A.V., Riabov G.S., Sukhanova A.L., Buravtsova E.V., Pokrovski V.V., Weber G.N. The molecular and virological specificities of the epidemic of HIV infections in Russia and other CIS countries. *Bulletin of the Russian Academy of Medical Sciences*, 2003, No. 12, pp. 83–85 (In Russ.)].
- 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. Vol. 12. P. 2335–2341.
- Лага В.Ю., Казеннова Е.В., Васильев А.В., Лаповок И.А., Исмаилова А., Бейшеева Н., Асыбалиева Н., Бобкова М.Р. Молекулярно-генетическая характеристика вариантов ВИЧ-1, распространенных на территории Киргизии // *Вопросы вирусологии.* 2012. № 5. С. 26–32. [Laga V.Iu., Kazennova E.V., Vasil'ev A.V., Lapovok I.A., Ismailova A., Be sheeva N., Asybalieva N., Bobkova M.R. Molecular genetic characterization of the HIV-1 variants abundant in Kirgiziia. *Problems of Virology*, 2012, No. 5, pp. 26–32 (In Russ.)].
- Муранкина В.Р., Власов Е.В., Ивлев В.В., Тотменин А.В., Гашникова М.П., Мирджамалова Ф.О., Соколов Ю.В., Казаева Е.В., Гашникова Н.М. Данные текущего мониторинга эпидемии ВИЧ-инфекции в Новосибирской области // *Молекулярная диагностика-2017: сборник трудов IX Всероссийской научно-практической конференции с международным участием.* 2017. С. 476–477. [Murankina V.P., Vlasov E.V., Ivlev V.V., Totmenin A.V., Gashnikova M.P., Mirjamalova F.O., Sokolov Yu.V., Kazaeva E.V., Gashnikova N.M. Current monitoring data of HIV epidemic infection in Novosibirsk areas. *Molecular diagnostics-2017*, Proceedings of the IX Russian scientific-practical conference with international participation, 2017, pp. 476–477 (In Russ.)].
- Gashnikova N.M., Bogachev V.V., Baryshev P.B., Totmenin A.V., Gashnikova M.P., Kazachinskaya A.G., Ismailova T.N., Stepanova S.A., Chernov A.S., Mikheev V.N. A rapid expansion of HIV-1 CRF63_02A1 among newly diagnosed HIV-infected individuals in the Tomsk Region, Russia // *AIDS Res Hum Retroviruses.* 2015. Vol. 4. P. 456–460.
- Gashnikova N.M., Zyryanova D.P., Astakhova E.M., Ivlev V.V., Gashnikova M.P., Pustyl'nikov S.V., Bocharov E.F., Totmenin A.V., Moskaleva N.V., Aikin S.S., Bulatova T.N. Predominance of CRF63_02A1 and multiple patterns of unique recombinant forms of CRF63_A1 among individuals with newly diagnosed HIV-1 infection in Kemerovo oblast, Russia // *Archives of Virology.* 2017. Vol. 2. P. 379–390.
- Котова В.О., Троценко О.Е., Балахонцева Л.А., Базыкина Е.А., Янович О.А., Щицканов Ю.В., Павлова М.Н., Шмакова Т.И. Молекулярно-эпидемиологическая характеристика вариантов ВИЧ-1, циркулирующих на территории Еврейской автономной области // *ВИЧ-инфекция*

- и иммуносупрессии*. 2018. № 4. С. 90–99. [Kotova V.O., Trotsenko O.E., Balakhontseva L.A., Bazykina E.A., Yanovich O.A., Schikanov Yu.V., Pavlova M.N., Shmakova T.I. Molecular-epidemiological characteristics of HIV-1 variants circulating in the Jewish Autonomous Region territory. *HIV Infection and Immunosuppressive Disorders*, 2018, No. 4, pp. 90–99 (In Russ.).]
9. Тотменин А.В., Астахова Е.М., Ивлев В.В., Зырянова Д.П., Гашникова М.П., Власов Е.В., Муранкина В.Р., Гашникова Н.М. Особенности генотипирования ВИЧ-1 с учетом развития современных территориальных эпидемий // *Молекулярная диагностика-2017: сборник трудов IX Всероссийской научно-практической конференции с международным участием 2017: 477–478* [Totmenin A.V., Astakhova E.M., Ivlev V.V., Zyryanova D.P., Gashnikova M.P., Vlasov E.V., Murankina V.R., Gashnikova N.M. Features of HIV-1 genotyping with regard to the development of modern territorial epidemic. *Molecular diagnostics 2017*, works of the IX Russian scientific-practical conference with international participation. 2017. P. 477–478 (In Russ.).]
 10. Kazenpova E., Laga V., Lapovok I., Glushchenko N., Neshumaev D., Vasilyev A., Bobkova M. HIV-1 Genetic Variants in the Russian Far East // *AIDS Res. Hum. Retroviruses*. 2014. Vol. 8. P. 742–752.
 11. Gashnikova N.M., Astakhova E.M., Gashnikova M., Bocharov E.F., Totmenin A.V., Petrova S.V., Pun'ko O.A., Popkov A.V. HIV-1 epidemiology, genetic diversity, and primary drug resistance in the Tyumen oblast, Russia // *BioMed Research International*. 2016. 2016. 2496280. Epub 2016 Nov 13.
 12. Гришечкин А.Е., Казеннова Е.В., Суханова А.Л. Белых С.И., Султанов Л.В., Демьяненко Э.Р., Плотникова О.И., Ладная Н.Н., Покровский В.В., Бобков А.Ф. Молекулярно-эпидемиологическая характеристика ВИЧ-инфекции на территории Алтайского края // *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии*. 2006. № 1. С. 15–19. [Grishechkin A.E., Kazenpova E.V., Sukhanova A.L., Belykh S.I., Sultanov L.V., Dem'ianenko E.R., Plotnikova O.I., Ladnaia N.N., Pokrovski V.V., Bobkov A.F. Molecular and epidemiological characterization of HIV-infection in the Altai Territory *Journal of Mikrobiology, Epidemiology and Immunobiology* 2006. Vol. 1. P. 15–19. (In Russ.).]
 13. Gifford R.J., Liu T.F., Rhee S.Y., Kiuchi M., Hue S., Pillay D, Shafer R.W. The calibrated population resistance tool: standardized genotypic estimation of transmitted HIV-1 drug resistance // *Bioinformatics*. 2009. Vol. 9. P. 1197–1198.
 14. Miller S.A., Dykes D.D., Polesky H.F. Miller S.A., Dykes D.D., Polesky H.F. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells // *Nucleic Acids Res*. 1988. Vol. 3. P. 1215.
 15. Struck D., Lawyer G., Ternes A.M., Schmit J.C., Bercoff D.P. COMET: adaptive context-based modeling for ultrafast HIV-1 subtype identification // *Nucleic Acids Res*. 2014. Vol. 18. e144.
 16. Pineda-Peña A.C., Faria N.R., Imbrechts S., Libin P., Abecasis A.B., DeForche K., Gómez-López A., Camacho R.J., de Oliveira T, Vandamme A.M. Automated subtyping of HIV-1 genetic sequences for clinical and surveillance purposes: Performance evaluation of the new REGA version 3 and seven other tools // *Infect. Genet. Evol*. 2013. Vol. 19. P. 337–348.
 17. Schultz A.K, Zhang M., Bulla I., Leitner T., Korber B., Morgenstern B., Stanke M. jpHMM: improving the reliability of recombination prediction in HIV-1 // *Nucleic Acids Res*. 2009. Vol. 37 (Web Server issue): W647–651.
 18. Siepel A.C., Halpern A.L., Macken C., Korber B.T. A computer program designed to screen rapidly for HIV type 1 intersubtype recombinant sequences // *AIDS Res. Hum. Retroviruses*. 1995. Vol. 11. P. 1413–1416.
 19. Altschul S., Gish W., Miller W., Myers E., Lipman D. Basic local alignment search tool // *Journal of Molecular Biology*. 1990. Vol. 3. P. 403–410.
 20. Tamura K., Stecher G., Peterson D., Filipski A., Kumar S. MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 6.0 // *Mol. Biol. Evol*. 2013. Vol. 12. P. 2725–2729.
 21. Riva C., Romano L., Saladini F., Lai A., Carr J.K., Francisci D., Balotta C., Zazzi M. Identification of a possible ancestor of the subtype A1 HIV Type 1 variant circulating in the former Soviet Union // *AIDS Research and Human Retroviruses*. 2008. Vol. 10. P. 1319–1325.
 22. Туманов А.С., Казеннова Е.В., Громов, К.Б., Ломакина Е.А., Зозуля Е.Ю., Берсенов П.Г., Бобкова М.Р. Молекулярно-эпидемиологический анализ ВИЧ-инфекции в Сахалинской области // *ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии*. 2017. Т. 3. С. 113–120. [Tumanov A.S., Kazenpova E.V., Gromov K.B., Lomakina E.A., Zozylya E.Y., Bersenev P.G., Bobkova M.R. The molecular epidemiological analysis of HIV infection in Sakhalin region, Russia. *HIV Infection and Immunosuppressive Disorders*, 2017, Vol. 3, pp. 113–120 (In Russ.).]
 23. Kazenpova E., Laga V., Gromov K., Lebedeva N., Zhukova E., Pronin A., Grezina L., Dement'eva N., Shemshura A., Bobkova M. Genetic variants of HIV type 1 in MSM in Russia // *AIDS Res. Hum. Retroviruses*. 2017. Vol. 10. P. 1061–1064.
 24. Bennett D.E., Camacho R.J., Otelea D., Kuritzkes D.R., Fleury H., Kiuchi M., Heneine W., Kantor R., Jordan M.R., Schapiro J.M., Vandamme A.M., Sandstrom P., Boucher C.A., van de Vijver D, Rhee S.Y., Liu T.F., Pillay D., Shafer R.W. Drug resistance mutations for surveillance of transmitted HIV-1 drugresistance: 2009 update // *PLoS One*. 2009. Vol. 4, No. 3. e4724.
 25. Wolinsky S.M., Korber B.T., Neumann A.U., Daniels M., Kunstman K.J., Whetsell A.J., Furtado M.R., Cao Y., Ho D.D., Saifrit J.T. Adaptive evolution of HIV type 1 during the natural course of infection // *Science*. 1996. Vol. 272. P. 537–542.
 26. Hofstra L.M., Schmit J.C., Wensing A.M.J. *Transmission of HIV-1 drug resistance*. Handbook of Antimicrobial Resistance. doi: 10.1007/978-1-4939-0667-3_23-1 Springer Science+Business Media New York 2015.
 27. Machnowska P., Meixenberger K., Schmidt D., Jessen H., Hillenbrand H., Gunsenheimer-Bartmeyer B., Hamouda O., Kücherer C., Bannert N. German HIV-1 Seroconverter Study Group // *PLoS One*. 2019. No. 1. e0209605. doi: 10.1371/journal.pone.0209605. eCollection 201.

28. Sluis-Cremer N., Jordan M.R., Huber K., Wallis C.L., Bertagnolio S., Mellors J.W., Parkin N.T., Harrigan P.R. E138A in HIV-1 reverse transcriptase is more common in subtype C than B: implications for rilpivirine use in resource-limited settings // *Antiviral Res.* 2014. Vol. 107. P. 31–34.
29. Казеннова Е.В., Лаповок И.А., Лага В.Ю., Васильев А.В., Бобкова М.Р. Естественные полиморфизмы гена pol варианта ВИЧ IDU-A. *ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии.* 2012. № 4. С. 44–51. [Kazennova E.V., Lapovok I.A., Laga V.Yu., Vasilyev A.V., Bobkova M.R. Natural polymorphisms of HIV-1 IDU-A variant pol gene. *HIV Infection and Immunosuppressive Disorders*, 2012, No. 4, pp. 44–51 (In Russ.)].

Поступила в редакцию / Received by the Editor: 10.09.2019 г.

Сведения об авторах:

Казеннова Елена Валерьевна — доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории вирусов лейкозов федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н. Ф. Гамалеи» Министерства здравоохранения Российской Федерации; 123098, г. Москва, ул. Гамалеи, д. 16; e-mail: kazennova@ Rambler.ru;

Антонова Анастасия Александровна — младший научный сотрудник лаборатории вирусов лейкозов федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н. Ф. Гамалеи» Министерства здравоохранения Российской Федерации; 123098, г. Москва, ул. Гамалеи, д. 16; e-mail: anastaseika95@mail.ru;

Ожмегова Екатерина Никитична — младший научный сотрудник лаборатории вирусов лейкозов федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н. Ф. Гамалеи» Министерства здравоохранения Российской Федерации; 123098, г. Москва, ул. Гамалеи, д. 16; e-mail: belokopytova.01@mail.ru;

Демьяненко Эльвира Раульевна — заместитель главного врача по организационно-методической работе краевого государственного бюджетного учреждения здравоохранения «Алтайский краевой центр по профилактике и борьбе со СПИДом и инфекционными заболеваниями»; 656010, Алтайский край, г. Барнаул, 5-я Западная ул., д. 62; e-mail: elvirademianenko@yandex.ru;

Минакова Мария Валентиновна — заведующая отделом клинической эпидемиологии краевого государственного бюджетного учреждения здравоохранения «Алтайский краевой центр по профилактике и борьбе со СПИДом и инфекционными заболеваниями»; 656010, Алтайский край, г. Барнаул, 5-я Западная ул., д. 62; e-mail: mari.minakova.72@mail.ru;

Белоусова Ольга Владимировна — врач-инфекционист лечебного отдела краевого государственного бюджетного учреждения здравоохранения «Алтайский краевой центр по профилактике и борьбе со СПИДом и инфекционными заболеваниями»; 656010, Алтайский край, г. Барнаул, 5-я Западная ул., д. 62; e-mail: olgabelousova17@mail.ru;

Громов Константин Борисович — младший научный сотрудник лаборатории вирусов лейкозов федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н. Ф. Гамалеи» Министерства здравоохранения Российской Федерации; 123098, г. Москва, ул. Гамалеи, д. 16; e-mail: konstantinhiv@bk.ru;

Бобкова Марина Ридовна — доктор биологических наук, заведующая лабораторией вирусов лейкозов федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н. Ф. Гамалеи» Министерства здравоохранения Российской Федерации; 123098, г. Москва, ул. Гамалеи, д. 16; e-mail: mrbobkova@mail.ru.