

*А.В.Семенов^{1,2,3}, Ю.В.Останкова¹, М.А.Чурина¹, Н.А.Никитина¹, А.П.Росоловский⁴,
Е.В.Гребенкина⁴, Т.Н.Ткаченко⁵, Т.А.Жандармова⁵, Арег А.Тотолян^{1,2}*

МОЛЕКУЛЯРНО-БИОЛОГИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ДИАГНОСТИКИ ПРИ РАССЛЕДОВАНИИ СЛУЧАЯ ПЕРЕДАЧИ ВИЧ-ИНФЕКЦИИ

¹Санкт-Петербургский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера, ²Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П.Павлова, ³Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И.Мечникова, ⁴Управление Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека по Новгородской области, ⁵Новгородский Центр по профилактике и борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями «Хелпер»

Цель. Эпидемиологическое расследование случая группового инфицирования ВИЧ-1 на основании данных, полученных общепринятыми методами диагностики, для подтверждения следственной гипотезы об умышленном инфицировании ВИЧ при гетеросексуальном контакте. *Материалы и методы.* Были использованы образцы плазмы крови 8 пациентов с ВИЧ-инфекцией (5 женщин и 3 мужчин) из г. Великий Новгород, направленные для проведения эпидемиологического расследования. Определение проводили на основе анализа нуклеотидных последовательностей участка гена полимеразы (pol) протяженностью 1285 нт. *Результаты.* Проведенное исследование позволило идентифицировать ВИЧ в клинических образцах, отправленных на экспертизу, и установить филогенетические связи между изолятами вируса, полученными как от пациентов целевой группы, так и от пациентов контрольной группы. При анализе полученных результатов можно выделить образцы, сгруппированные в отдельный кластер, что указывает на тесные родственные связи изолятов вируса, выделенного из клинического материала этих пациентов, между собой. Пациенты целевой группы заражены изолятом ВИЧ-1 циркулирующей рекомбинантной формы CRF03_AB, происходящим из одного источника, что подтверждается высокой гомологией нуклеотидных последовательностей. *Заключение.* В ходе эпидемиологического расследования случая группового инфицирования ВИЧ-1 было определено, что заражение женщин целевой группы произошло из одного источника. Результаты филогенетического анализа указывают на наличие эпидемиологической связи внутри обследуемой группы, что подтверждает случай передачи ВИЧ-инфекции и выводы, сделанные в ходе следствия. Использование для молекулярно-филогенетического анализа данных, полученных методами лабораторной диагностики резистентности ВИЧ к антиретровирусным препаратам, позволяет в сочетании с анамнестической и следственной информацией (в контексте имеющихся доказательств) расследовать случаи инфицирования ВИЧ.

Журн. микробиол., 2017, № 4, С. 59—66

Ключевые слова: передача ВИЧ-инфекции, молекулярная эпидемиология, ген pol, протеаза, обратная транскриптаза, субтип, молекулярно-эпидемиологическое расследование

*A.V.Semenov^{1,2,3}, Yu.V.Ostankova¹, M.A.Churina¹, N.A.Nikitina¹, A.P.Rosolovsky⁴,
E.V.Grebenkina⁴, T.N.Tkachenko⁵, T.A.Zhandarmova⁵, Areg A.Totolyan^{1,2}*

MOLECULAR-BIOLOGICAL METHODS OF DIAGNOSTICS FOR INVESTIGATION OF HIV INFECTION TRANSMISSION

¹Pasteur St. Petersburg Research Institute of Epidemiology and Microbiology, ²Pavlov St. Petersburg State Medical University, ³Mechnikov Northwestern State Medical University, ⁴Administration of the Rospotrebnadzor for Novgorod Region, ⁵Novgorod Centre for Prophylaxis and Control of AIDS and Infectious Diseases «Helper», Novgorod, Russia

Aim. Epidemiologic examination of the case of group HIV-1 infection based on data obtained by general diagnostics methods for confirmation of the investigation hypothesis of deliberate HIV infection during heterosexual intercourse. *Materials and methods.* Sera samples from 8 HIV infected patients (5 female and 3 male) from Veliky Novgorod sent for epidemiologic investigation were used. Determination was carried out based on 1285 nt sequence analysis of polymerase gene segment (pol). *Results.* The study allowed to identify HIV in clinical samples sent to the expertise and establish phylogenetic connections between virus isolates obtained from both target and control group patients. Analysis of the results allowed to isolate samples grouped in a separate cluster that indicates tight cordial connections between the virus isolates from clinical material of these patients. Patients of the target group were infected with HIV-1 isolate of the circulating recombinant form CRF03_AB from the same origin that is confirmed by high homology of the nucleotide sequences. *Conclusion.* Epidemiologic investigation of a group case of HIV-1 infection has determined that the infection of the women of the target group occurred from the same source. Phylogenetic analysis results indicate the presence of an epidemiologic connection within the examined group that confirms the HIV infection transmission and conclusions of the investigation. Use of molecular-phylogenetic analysis of data obtained by laboratory diagnostics methods of HIV resistance to antiretroviral preparations allows with anamnestic and investigation information (in the context of available evidence) to investigate cases of HIV infection.

Zh. Mikrobiol. (Moscow), 2017, No. 4, P. 59—66

Key words: HIV infection transmission, molecular epidemiology, pol gene, protease, reverse transcriptase, subtype, molecular-epidemiologic investigation

ВВЕДЕНИЕ

В Российской Федерации на 31 декабря 2015 г. зарегистрированы 1 006 388 человек, инфицированных ВИЧ, что составляет около 0,7% населения страны. При этом пораженность составляет 541,8 на 100 тыс. населения, а заболеваемость в 2015 г. составила 63,6 на 100 тыс. населения [1]. В последние годы наблюдается тенденция к увеличению доли гетеросексуального пути передачи в распространении вируса и активного участия женщин в эпидемическом процессе [5]. Среди впервые выявленных в 2015 г. ВИЧ-положительных больных с установленными факторами риска заражения 44% были инфицированы при гетеросексуальных контактах. Особое место занимают случаи умышленного инфицирования ВИЧ посредством половых контактов.

Как известно, поведение ВИЧ-инфицированных принято рассматривать на двух уровнях: с точки зрения последствий для самого больного и последствий для окружающих его людей. При этом, в качестве ответа на психологическую травму больной может демонстрировать опасное для общества поведение, в том числе намеренно распространяя инфекцию, стремясь заразить как можно большее число людей, известны случаи намеренного заражения как мести за собственное инфицирование [7]. При этом показано, что у мужчин с увеличением возраста уменьшается положительная переоценка ситуации и корреляция с самоконтролем. У мужчин выражен высокий уровень такого механизма психологической защиты, как вытеснение, ведущее к низкому уровню осознания опасности для больного и окружающих его людей нестабильного рискованного поведения, включающего в себя употребление алкоголя, наркотических веществ и беспорядочные половые связи. ВИЧ-инфицированные с высоким уровнем такого типа психологической защиты могут демонстрировать агрессивное и враждебное поведение. Одним из вариантов такого поведения является поиск новых половых партнеров с дальнейшим намеренным инфицированием их ВИЧ.

При анализе полового поведения ВИЧ-инфицированных было выявлено

большое количество больных, знавших о наличии ВИЧ-инфекции, но при этом имевших сексуальных партнеров, в том числе случайных, что указывает на высокий уровень сексуальной активности и рискованное для окружающих поведение больных [4].

Следует отметить, что ВИЧ-инфицированные больные, ведущие активную половую жизнь с постоянными и случайными партнерами, часто не задумываются о возможности заражения партнера. Кроме того, в большинстве случаев, ВИЧ-инфицированные не знают или не осознают в полной мере, что в отсутствии согласия их партнеров на принятие риска, половые контакты могут быть квалифицированы как уголовное преступление на основании ст. 122 действующего УК РФ [8].

Таким образом, в случае обнаружения групповых случаев ВИЧ-инфекции возникает необходимость выявления общего источника инфицирования. При этом желательно использование стандартизированных методов лабораторной диагностики.

Целью нашей работы было эпидемиологическое расследование случая группового инфицирования ВИЧ-1 на основании данных, полученных общепринятыми методами диагностики, для подтверждения следственной гипотезы об умышленном инфицировании ВИЧ при гетеросексуальном контакте.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе были использованы образцы плазмы крови 8 пациентов с ВИЧ-инфекцией (5 женщин и 3 мужчин) из г. Великий Новгород, направленные в Северо-Западный Окружной Центр по профилактике и борьбе со СПИД (СЗО Центр СПИД) на базе Санкт-Петербургского НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера в 2016 г. для проведения эпидемиологического расследования. Исследованный материал представлен двумя группами: клинический материал из предполагаемого очага инфицирования (4 человека, в т.ч. 3 женщины и 1 мужчина, который был предполагаемым источником инфицирования, далее целевая группа), а также клинический материал от заведомо не вовлеченных в предполагаемый очаг пациентов с ВИЧ-инфекцией (4 человека, в т.ч. 2 женщины и 2 мужчин, образцы сравнения).

Для всех образцов проводили предварительное концентрирование вируса ультрацентрифугированием плазмы крови в течение 1 часа при 24 000g, +4°C. Выделение РНК ВИЧ-1 из клинического материала и обратную транскрипцию для получения кДНК проводили с использованием коммерческих наборов «РИБО-золь-Е» (ЦНИИЭ, Москва). Определение субтипов ВИЧ-1 проводили на основе анализа нуклеотидных последовательностей участка гена полимеразы (pol) протяженностью 1285 нт., кодирующего ген протеазы (PR) протяженностью 465 нт. и участок гена обратной транскриптазы (RT) протяженностью 820 нт. Для обратной транскрипции и амплификации использовали коммерческие наборы «ОТ-ПЦР-комплект-Pro/Rev» и «ПЦР-комплект-Pro/Rev» (ЦНИИЭ, Москва) в трех повторностях, согласно инструкции производителя.

Продукты первичной амплификации и секвенирующей реакции очищали с помощью набора реагентов «Ампли-Сорб». Для контроля качества очищения продуктов амплификации проводили оценку в 1,5% агарозном геле с добавлением раствора бромистого этидия (0,5 мкг/мл), визуализировали в ультрафиолетовом свете на трансиллюминаторе. Концентрацию НК дополнительно измеряли на флуориметре Qubit 2.0 по стандартной методике, рекомендован-

ной производителем. Очищенный фрагмент достаточной концентрации использовали для постановки секвенирующих реакций.

Секвенирующую реакцию проводили согласно инструкции к набору «АмплиСенс® HIV-Resist-Seq» (ЦНИИЭ, Москва). Для анализа продукта секвенирующей реакции очищенный осадок денатурировали в формамиде и помещали в генетический анализатор ABI Prism 3500 (Applied Biosystems, США).

Для определения филогенетических связей изолятов был проведен филогенетический анализ, где в качестве контрольных образцов группы сравнения использовали 20 изолятов ВИЧ-1 от больных, проживающих в соответствующем географическом регионе, полученные ранее НИИЭМ им. Пастера в период 2014 — 2016 гг. из Новгородского центра по профилактике и борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями «Хелпер».

Обработка данных, полученных в ходе секвенирования фрагментов, и получение консенсусной нуклеотидной последовательности проводили с помощью программного обеспечения ДЕОНА (ООО «МедАйтиГрупп», Россия). Первичный анализ полученных консенсусных нуклеотидных последовательностей проводили с помощью программы NCBI Blast в сравнении с нуклеотидными последовательностями, представленными в GenBank. Выравнивание нуклеотидных последовательностей проводили в программе MEGA версия 5, используя алгоритм ClustalW. В связи с тем, что для исследуемого региона ВИЧ-1 показана высокая скорость молекулярной эволюции с неравномерной фиксацией нуклеотидных замен, оценку эволюционного расстояния между последовательностями проводили по модифицированной формуле Тамуры-Ней, для построения филогенетических деревьев и последующего филогенетического анализа применяли алгоритм Neighbor-joining, позволяющий оптимизацию деревьев в соответствии с критерием «сбалансированной минимальной эволюции», при оценке достоверности филогенетических связей использовали бутстреп анализ для 500 независимых построений каждого филогенетического дерева [17].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Для всех образцов была получена нуклеотидная последовательность искомого региона удовлетворительного качества, пригодная для дальнейшего анализа. Группа сравнения была подобрана согласно рекомендованным международным критериям: совпадающий географический регион проживания, близкие сроки инфицирования, однородный социальный контекст, оптимальная численность 20 — 50 образцов [10]. Применение молекулярно-эпидемиологических методов для расследования случаев инфицирования осложняется тем, что зачастую в относительно гомогенной группе проводится анализ изолятов, полученных спустя различное время от первичного инфицирования и с неизвестным промежутком времени между заражением и временем проведения анализа, в то время как эволюция вируса зависит, в том числе, от индивидуальных особенностей хозяина и от стадии заболевания [12]. Проведенное исследование позволило идентифицировать ВИЧ в клинических образцах, отправленных на экспертизу, и установить филогенетические связи между изолятами вируса, полученными как от пациентов целевой группы, так и от пациентов контрольной группы.

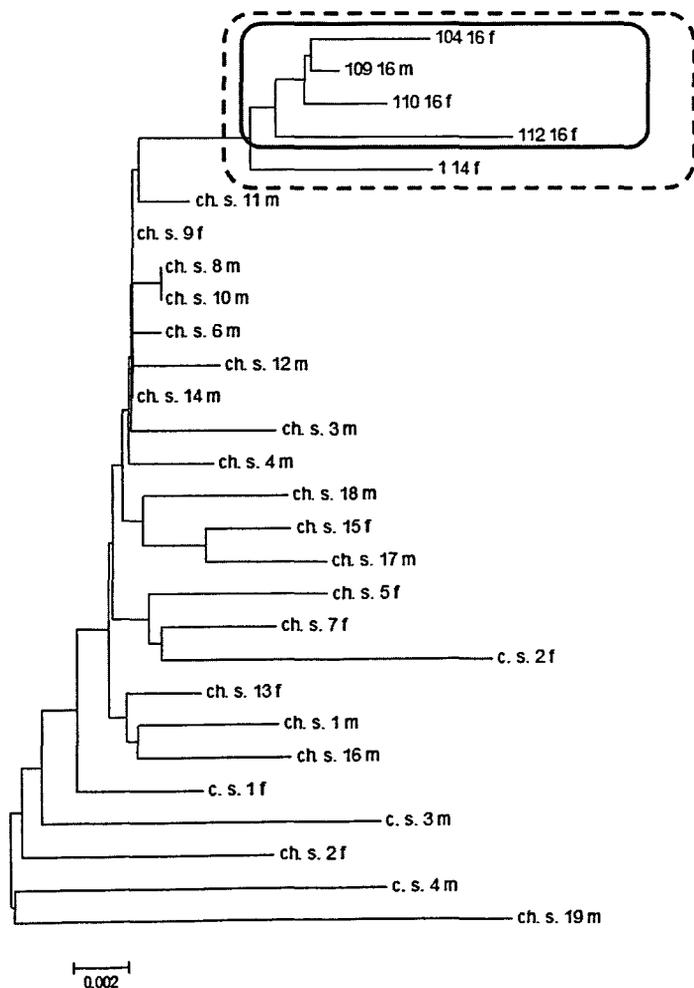
Результат филогенетического анализа графически представлен на рис.

При анализе полученных результатов можно выделить сгруппированные в отдельный кластер образцы рег. № 104_16_f, № 109 16 m, № 110 16 f, № 112

16 f, что указывает на тесные родственные связи изолятов вируса, выделенного из клинического материала этих пациентов, между собой. На рис. этот кластер обведен сплошной линией. Весьма близко к описанной группе примыкает образец, выделенный от пациентки рег. № 1_14_f, что может указывать на общность происхождения изолятов вируса у всех этих пациентов (кластер обведен пунктирной линией). Остальные проанализированные изоляты ВИЧ-1 кластеризуются в отдельные от вышеописанных образцов группы. Это позволяет достоверно утверждать, что между целевой группой и группой контроля отсутствует тесная филогенетическая связь. Таким образом, можно утверждать, что пациенты контрольной группы и пациенты целевой группы рег. № 104 16 f, № 109 16 m, № 110 16 f, № 112 16 f, № 1 14 f заражены ВИЧ-1 из независимых друг от друга источников.

Пациенты с рег. № 104 16 f, № 109 16 m, № 110 16 f, № 112 16 f, № 1 14 f заражены изолятом ВИЧ-1 циркулирующей рекомбинантной формы CRF03_AB, происходящим из одного источника, что подтверждается высокой гомологией нуклеотидных последовательностей, полученных в результате анализа из клинического материала пациентов. Нуклеотидная идентичность в пределах группы составила 97,25%, тогда как между ближайшими образцами целевой группы и группы сранения, относящихся к субтипу A1, не превышала 90%. Следует отметить, что причиной выявленных различий в пределах целевой группы является, вероятнее всего, разное время инфицирования, реинфекция, влияние антиретровирусной терапии в двух случаях и высокая скорость эволюции ВИЧ.

Выявленный в целевой группе ВИЧ-1 варианта CRF03_AB в Российской Федерации впервые опи-



Дендрограмма, характеризующая филогенетические отношения изолятов ВИЧ-1, выделенных на территории Новгородской области в 2014 — 2016 гг. Выделена целевая группа, относительно которой проводили анализ.

Естественные полиморфные варианты в регионах протеазы и обратной транскриптазы, выявленные в целевой и контрольной группах

Группы	Естественные полиморфные варианты, выявленные в регионе протеазы	Естественные полиморфные варианты, выявленные в регионе обратной транскриптазы
Целевая	L10I, I13V/IV, K14R, G16E, E35D, M36I, N37T, R41K, R57K, I62IT, L63V/S/FS, H69K, K70R, L89M, I93L	E6EK, T7P, K11T/A, V35IT/T, E36D, T39N/M/LMR, K122P, I135RT, I142T, V148VG, S162SN, K173Q/KQ, D177E, Q207E/EG, V245VM/M
Контрольная	L10LI/V, K14RT/R, I15V, E34Q, E35D, M36I, N37D, R41K, Q61E, L63IM/V, I64IM, H69K, A71I, V77I, L89M, I93L	P9K, K11KT, P14A, V35T, E36D, T39N/GR/K/TN, V60I, S68G, T69N, K102Q, V106I, D121H, K122E, D123S/N, I135T, I142IV, K154KE, P157PA, A158AS, S162C/SC, S163SN, K173L/V/S, Q174K, D177E, I178IL, V189VI, T200A/I, E203D, Q207A, R211S, F214FL, L228LH, V245M/Q, E248D, V254VG, A272AP

сан в 1996 г. в связи с эпидемической вспышкой, связанной с употреблением инъекционных наркотиков. В Северо-Западном Федеральном округе (СЗФО) данная форма вируса широко распространена в Калининградской области и в единичных случаях описана за ее пределами (например, в г.Череповец Вологодской области) [16]. Уже в 2009 г. в Новгородской области показано преобладание доли пути передачи вируса посредством гетеросексуальных контактов по сравнению с другими путями [6], а распространенность варианта CRF03_AB, исключая ранее упомянутые регионы эпидемических вспышек, в СЗФО очень низка даже в более поздние годы в самых пораженных эпидемией ВИЧ регионах [2, 3]. При этом у мужчины, являющегося предполагаемым источником инфицирования, 1 положительный иммуноблот — в 2004 г., с 2006 г. больной поставлен на учет в Новгородский центр по профилактике и борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями «Хелпер». У женщин (предположительных реципиентах) 1 положительный иммуноблот — в 2016 г. (половая связь с предполагаемым источником инфицирования 2013 — 2015 гг., 2014 — 2015 гг., 2015 г.), за исключением пациентки рег. № 1 14 f, 1 положительный иммуноблот которой — в 2011 г. Мужчина и женщины рег. № 104 16 f, № 112 16 f не получали антиретровирусную терапию (АРВТ). Пациентка рег. № 110 16 f впервые начала принимать АРВТ в 2016 г. Пациентка рег. № 1 14 f трижды начинала терапию антиретровирусными препаратами (АРВП), однако низкая приверженность к лечению привела к прогрессированию заболевания до стадии 4Б.

Ни в одном из образцов целевой группы не были выявлены значимые мутации лекарственной устойчивости, однако показан ряд естественных полиморфных вариантов в проанализированных регионах генов протеазы и обратной транскриптазы как сходные у всех членов группы, так и отличающиеся. При этом наряду с мутациями, встречающимися среди ВИЧ-инфицированных лиц контрольной группы (PR: E35D, M36I, R41K, H69K, L89M, I93L; RT: K11T, V35T, E36D, T39M, D177E), обнаружены полиморфные варианты, характерные только для целевой группы (табл.).

Так, полиморфный вариант G16GE, показанный у мужчины в регионе протеазы и выявленный у всех пациенток в форме G16E, ни у одного ВИЧ-инфицированного из Великого Новгорода отмечен не был. R57K и K70R, показанные у мужчины, выявлены у всех женщин, кроме рег. № 1 14 f, и также не встречаются в контрольной группе. Следует отметить, что полиморфные варианты G16E и R57K относят к мутациям, связанным с частичной лекарственной устойчивостью или поддерживающим лекарственную устойчивость ВИЧ-1 субтипа В [9]. При этом, замена R57K ассоциирована с вирусологиче-

ской неэффективностью АРВТ у АРВТ-наивных пациентов [13], а сочетание полиморфных вариантов E35D + R57K, обнаруженное у всех ВИЧ-инфицированных целевой группы, может возникать за счет воздействия лекарственных веществ и приводить к фармакорезистентности вируса не-В субтипа, что, очевидно, особенно актуально в случае рекомбинантной формы CRF03_AB [Liu Z. et al., 2016]. Учитывая, что трое пациентов, включая мужчину, являющегося предполагаемым источником инфицирования, не принимали АРВТ, вероятнее всего, данная мутация (или сочетание мутаций) была получена из первичного источника инфекции. Обращает на себя внимание мутация L63FS, наличествующая у всех женщин в варианте L63S, за исключением рег. № 1 14 f, у которой присутствует в варианте L63V, при этом такая же форма выявлена в контрольной группе у трех ВИЧ-инфицированных с неэффективной АРВТ. Полиморфный вариант I13IV, показанный у мужчины, был выявлен только у пациентки рег. № 1 14 f в форме I13V, но при этом встречается среди пациентов контрольной группы.

При анализе мутаций в регионе обратной транскриптазы обращают на себя внимание полиморфные варианты K122P, K173Q и Q207E, присутствующие у всех больных целевой группы, тогда как среди пациентов контрольной группы мутации в этих регионах встречаются только в виде K122E, K173L/V/S и Q207A соответственно. При этом мутации K122E и Q207E описаны как полиморфные варианты, вероятно, связанные с лекарственной устойчивостью ВИЧ [11, 14, 15]. Полиморфный вариант V245VM в гене обратной транскриптазы, показанный у мужчины, был выявлен только у пациентки рег. № 1 14 f в форме V245M, но при этом встречается среди пациентов контрольной группы.

Описанная выше ситуация, при которой мутации, обнаруженные в изоляте, полученном от мужчины, наличествуют у всех женщин целевой группы, кроме пациентки рег. № 1 14 f, или, напротив, отсутствуют у всех, кроме нее, объясняется существенным промежутком времени между заражениями, за которое в ходе молекулярной эволюции вируса могла произойти утрата полиморфных вариантов изолятом, полученным от пациентки рег. № 1 14 f, либо возникновением данных мутаций ВИЧ у пациента рег. № 109 16 m на более поздних этапах развития вируса.

В ходе эпидемиологического расследования случая группового инфицирования ВИЧ-1 было определено, что заражение женщин целевой группы произошло из одного источника. Результаты филогенетического анализа указывают на наличие эпидемиологической связи внутри обследуемой группы, что подтверждает случай передачи ВИЧ-инфекции и выводы, сделанные в ходе следствия. Показана безусловная общность изолятов ВИЧ-1, выделенных из клинического материала пациентов целевой группы и пациентки рег. № 1 14 f, ранее не привлекавшейся в качестве потерпевшей в данном уголовном деле.

Использование для молекулярно-филогенетического анализа данных, полученных методами лабораторной диагностики резистентности ВИЧ к антиретровирусным препаратам, позволяет в сочетании с анамнестической и следственной информацией (в контексте имеющихся доказательств) расследовать случаи инфицирования ВИЧ.

ЛИТЕРАТУРА

1. ВИЧ-инфекция в Российской Федерации на 31 декабря 2015 г. Федеральный центр СПИД. URL: <http://www.hivrussia.ru/news/index.shtml>. Дата обращения 24.02.2016.
2. Дементьева Н.Е., Сизова Н.В., Лисицина З.Н. и др. Анализ субтипов и фармакорези-

- стентных вариантов ВИЧ, циркулирующих среди ВИЧ-инфицированных пациентов Санкт-Петербурга. ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии. 2011, 3 (4): 34-44.
3. Зайцева Н.Н., Пекшева О.Ю., Парфенова О.В. и др. Современные молекулярно-генетические технологии в надзоре за циркуляцией субтипов ВИЧ-1. Современные технологии в медицине. 2016, 8 (1): 121-127.
 4. Плавинский С.Л., Барина А.Н., Бобрик А.В. и др. Сексуальное поведение ВИЧ-инфицированных лиц группы риска. Необходимость дальнейшего усиления профилактической работы. ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии. 2009, 1: 102-108.
 5. Смольская Т.Т., Огурцова С.В. ВИЧ-инфекция в Северо-Западном федеральном округе РФ в 2009 г. Инфекция и иммунитет. 2011, 1 (4): 311-318.
 6. Смольская Т.Т., Огурцова С.В. Обзор состояния эпидемии ВИЧ-инфекции в Северо-Западном федеральном округе РФ в 1987-2009 гг. ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии. 2011, 3 (1): 27-36.
 7. Тулупьева Т.В., Тулупьев А.Л., Пашенко А.Е. и др. Психологическая защита и копинг-стратегии ВИЧ-инфицированных с позиции опасности для общественного здоровья: автоматизация сбора данных и итоги исследования. Труды СПИИРАН. 2007, 4: 357-387.
 8. Фаргиев И. Уголовно-правовая оценка заражения венерической болезнью. Уголовное право. 2010, 1: 42-44.
 9. Azam M., Malik A., Rizvi M. et al. Emergence of drug resistance-associated mutations in HIV-1 subtype C protease gene in North India. Virus Genes. 2013, 47 (3): 422-428.
 10. Bernard E.J., Azad Y., Vandamme A.M. et al. HIV forensics: pitfalls and acceptable standards in the use of phylogenetic analysis as evidence in criminal investigations of HIV transmission. HIV Med. 2007, 8 (6): 382-387.
 11. Krishnan K.M., Amsavathani S. Polymorphisms of HIV RT gene among the ART naive native drug exposed rural PLHA. J. Glob. Infect. Dis. 2012, 4 (2): 110-113.
 12. Machuca R., Jørgensen L.B., Theilade P. et al. Molecular investigation of transmission of human immunodeficiency virus type 1 in a criminal case. Clin. Diagn. Lab. Immunol. 2001, 8 (5): 884-890.
 13. Masquelier B., Droz C., Dary M. et al. R57K polymorphism in the human immunodeficiency virus type 1 protease as predictor of early virological failure in a cohort of antiretroviral-naive patients treated mostly with a nelfinavir-containing regimen. Antimicrob. Agents Chemother. 2003, 47 (11): 3623-3626.
 14. Mohanakrishnan K., Kasthuri A., Amsavathani S.K. et al. HIV reverse transcriptase gene mutations in anti-retroviral treatment naive rural people living with HIV/AIDS. Indian J. Med. Microbiol. 2015, 33 (4): 565-567.
 15. Shanmugasundaram U., Solomon S., Madhavan V. et al. Analysis of selection pressure and mutational pattern of HIV type 1 reverse transcriptase region among treated and nontreated patients. AIDS Res. Hum. Retroviruses. 2010, 26 (10): 1093-1096.
 16. Smolskaya T., Liitsola K., Zetterberg V. et al. HIV epidemiology in the Northwestern Federal District of Russia: Dominance of HIV type 1 subtype A. AIDS Res. Hum. Retroviruses. 2006, 22 (11): 1074-1080.
 17. Tamura K., Peterson D., Peterson N. MEGA 5: molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. Mol. Biol. Evol. 2011, 28 (10): 2731-2739.

Поступила 20.02.17

Контактная информация: Останкова Ю.В.,
197101, Санкт-Петербург, ул. Мира, 14, р.т. (812)233-20-92