

СЛУЧАИ НЕЭФФЕКТИВНОЙ АНТИРЕТРОВИРУСНОЙ ТЕРАПИИ ВИЧ-1 У ДЕТЕЙ

Ю.В. Останкова¹, А.В. Семенов^{1,2,3}, М.А. Чурина¹, А.А. Тотолян^{1,2}

¹ Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия

² Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия

³ Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова, Санкт-Петербург, Россия

Cases inefficient antiretroviral therapy for HIV-1 in children

Yu.V. Ostantkova¹, A.V. Semenov^{1,2,3}, M.A. Churina¹, A.A. Totolian^{1,2}

¹ Saint-Petersburg Science Research Institute of Epidemiology and Microbiology named after Pasteur, Saint-Petersburg, Russia

² First Saint-Petersburg State Medical University named after academician I.P. Pavlov, Saint Petersburg, Russia

³ North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, Saint-Petersburg, Russia

Резюме

Цель. Изучение случаев вирусологической неэффективности АРВТ ВИЧ-1 у детей.

Материалы и методы. В работе были использованы образцы плазмы крови 6 пациентов с ВИЧ-инфекцией, выявленной в возрасте до 1 года жизни, из Северо-Западного федерального округа Российской Федерации, полученные в 2014–2016 гг. Представленные в группе пациенты были направлены на определение лекарственной устойчивости вируса и коррекции АРВТ в связи с вирусологической неэффективностью лечения. В настоящем исследовании мы применили генотипирование на основе прямого секвенирования участка гена полимеразы (*pol*) протяженностью 1285 нп, кодирующего ген протеазы (*PR*) протяженностью 465 нп и участок гена обратной транскриптазы (*RT*) протяженностью 820 нп.

Результаты. Во всех случаях был выявлен ВИЧ-1 субтипа А1, так называемого IDU-A, являющегося наиболее распространенным вариантом ВИЧ-1 в Российской Федерации. Среди полученных изолятов ВИЧ не были выявлены типичные мутации лекарственной устойчивости к НИОТ и ННИОТ. Обнаружены множественные естественные полиморфные варианты на рассматриваемом участке нуклеотидных последовательностей. Так, во всех образцах показаны мутации протеазы M36I, R41K, H69K и L89M, в пяти образцах E35D, в четырех образцах I13V. Единственный среди обследованных нами детей с сочетанным вариантом мутаций гена протеазы L63T + V77I + I93L и гена обратной транскриптазы V35I + K166R, несмотря на проводимую терапию и отсутствие значимых мутаций лекарственной устойчивости, согласно базе данных Стенфордского университета, демонстрировал высокую вирусную нагрузку – $2,03 \times 10^7$ копий/мл. Обсуждается значимость влияния естественных полиморфных вариантов на лекарственную устойчивость вируса.

Заключение. Показана высокая частота естественных полиморфных вариантов генов протеазы и обратной транскриптазы вируса среди представленных кли-

Abstract

Aim. Study cases virologic failure ART HIV-1 in children.

Materials and methods. The blood plasma samples of 6 patients with HIV infection were used, identified under 1 year of life, from the North-West Federal District of the Russian Federation, received in 2014–2016. Presented in a group of patients were aimed at identifying drug resistance in the virus and correction of ART due to virological failure. In the present study we used genotyping by direct sequencing of the site of the polymerase gene (*pol*) length of 1285 nt., The gene encoding the protease (*PR*) length of 465 nt. and a portion of the reverse transcriptase (*RT*) gene length of 820 nt.

Results. In all cases, I was diagnosed with HIV-1 subtype A1, the so-called IDU-A, which is the most common form of HIV-1 in the Russian Federation. Among the obtained isolates of HIV have been identified typical drug resistance mutations to NRTI and NNRTI. Detected multiple natural polymorphic variants from the land of the nucleotide sequences. Thus, all samples show protease mutation M36I, R41K, H69K, and L89M, five samples E35D, four samples I13V. Only one among the surveyed our children with combined variant protease gene mutations L63T + V77I + I93L and reverse transcriptase gene V35I + K166R, despite ongoing therapy and absence of significant drug resistance mutations, according to Stanford University-based data showed high viral load – 2.03×10^7 copies/ml. The importance of the influence of natural polymorphisms in the drug resistance of the virus is discussed.

Conclusion. The high frequency of natural polymorphic variants of the protease and reverse transcriptase genes of the virus in clinical samples submitted. The number of such mutations, apparently does not depend on the number of treatment regimens, but found some correlation with adherence to treatment.

нических образцов. Количество таких мутаций, по всей видимости, не зависит от количества используемых схем терапии, но обнаруживается некоторая корреляция с приверженностью к лечению.

Ключевые слова: ВИЧ, молекулярная эпидемиология, ген *pol*, протеаза, обратная транскриптаза, антиретровирусная терапия, резистентность, естественные полиморфные варианты.

Введение

Количество инфицированных вирусом иммунодефицита человека типа 1 в мире составляет почти 35,3 млн человек [1]. Показатель пораженности ВИЧ-инфекцией в Российской Федерации составляет 496,4/100 000 человек, однако в некоторых регионах уровень пораженности населения может значительно превышать средний показатель по России. В настоящее время в РФ по состоянию на 31 декабря 2015 г. инфицированы ВИЧ-1 более 1 млн человек [2].

Передача вируса от матери к ребенку в большинстве случаев происходит в период гестации, во время родов или посредством вскармливания грудным молоком. Как известно, у ВИЧ-инфицированных женщин, не получающих антиретровирусную терапию (АРВТ), частота передачи вируса детям составляет 5–10%, 10–20% и 5–15% соответственно [3]. Большинство детей, рожденных от ВИЧ-инфицированных матерей, избегают заражения, несмотря на незрелость иммунной системы и повторяющееся, в случае грудного вскармливания, инфицирование. Тем не менее, в мире почти 3 млн детей, живущих с ВИЧ/СПИД, и каждый год около 260 000 детей заражаются ВИЧ-1 [4]. Конечно же, эти цифры не совместимы с высказанной целью международного здравоохранения «Поколение без СПИДа» добиться элиминации случаев инфицирования новорожденных [5].

Эффективная профилактика вертикальной передачи ВИЧ от матери к ребенку значительно уменьшает риск инфицирования — до уровня ниже 5% среди семей, практикующих естественное кормление, и менее 2% при искусственном кормлении [6].

Тем не менее, частота вертикального ВИЧ-инфицирования детей все еще высока, что стало объектом пристального внимания Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), выразившей опасение по поводу благополучия ВИЧ-инфицированных детей и поддержавшей одну из важнейших целей мирового здравоохранения — снижение детской смертности [7, 8]. В связи с вышесказанным, во всем мире дети, рожденные от ВИЧ-инфицированных матерей, наблюдаются медицинскими службами и, в случае выявления вируса, получают АРВТ. Дети, рожденные от ВИЧ-

Key words: HIV, molecular epidemiology, gene *pol*, protease, reverse transcriptase, antiretroviral therapy, resistance, natural polymorphisms.

инфицированных матерей на территории Российской Федерации, наблюдаются в районных поликлиниках по месту жительства в общем порядке, а также, согласно приказу МЗ РФ от 19.12.2003 г. № 606, ставятся на учет с диагнозом «неокончательный тест на ВИЧ» и наблюдаются до исчезновения материнских антител к ВИЧ, с периодичностью 1 раз в 3 месяца на первом году жизни и 1 раз в 6 месяцев до 18 месяцев жизни для постановки или отрицания диагноза «ВИЧ-инфекция» [9]. Детям первого года жизни с установленным диагнозом «ВИЧ-инфекция» АРВТ назначают независимо от клинических проявлений и/или иммунного статуса.

Известно, что у детей, заразившихся ВИЧ-инфекцией от матерей в пре-, интра- или постнатальном периоде, развитие синдрома приобретенного иммунодефицита (СПИД) протекает быстрее, чем у ВИЧ-инфицированных взрослых. При этом показано более активное снижение CD4(+) -клеток и повышение уровня вирусной нагрузки в плазме крови [10]. Дети, инфицированные ВИЧ-1 вертикальным путем, сталкиваются с высоким риском смерти из-за активного развития СПИД, и без применения АРВТ более половины таких детей умирают в возрасте до трех лет [11, 12].

Введение антиретровирусной терапии значительно улучшило прогноз для ВИЧ-инфицированных детей, переводя ВИЧ-инфекцию из категории болезней, угрожающих жизни, в категорию хронических заболеваний. Применяемые в настоящее время универсальные для взрослых и детей схемы АРВТ приводят к увеличению количества детей, принимающих АРВТ на протяжении всей жизни и продолжающих терапию по мере взросления [13]. Хотя у детей АРВТ эффективно восстанавливает популяцию CD4(+) -клеток и подавляет активацию CD8(+) -клеток, как и у взрослых больных, влияние ВИЧ и АРВТ на различные популяции CD4(+) -клеток недостаточно изучено [14, 15]. Однако эффективные схемы лечения, как правило, требуют комплексной АРВТ из трех или более активных препаратов, по крайней мере двух различных классов. Теперь, когда ВИЧ-инфицированные дети получают длительные курсы приема АРВТ-препаратов, возникает необходимость разработки последовательных схем ле-

чения, которые будут действенными, независимо от накапливающихся с течением времени мутаций лекарственной устойчивости.

Дополнительным фактором, влияющим на развитие лекарственной устойчивости у детей, является, по всей видимости, проживание в социально неблагополучных семьях, где один или оба родителя страдают ВИЧ-инфекцией, а также могут являться бывшими или активными потребителями инъекционных наркотических веществ, что сказывается на приверженности терапии не только родителей, но и зависящих от них детей. Так, например, известно, что на бытовом уровне партнеры-мужчины оказывают значительное влияние на использование женщинами медицинских услуг, принятие консультирования и тестирования на ВИЧ, приверженность к терапии самой женщины и ребенка [16]. Кроме того, особенно значимым подбор комплексной АРВТ становится в свете все более частой передачи от матери детям штаммов ВИЧ, устойчивых к тем или иным антиретровирусным препаратам [17].

Цель исследования — изучение случаев вирусологической неэффективности АРВТ ВИЧ-1 у детей.

Материалы и методы

В работе были использованы образцы плазмы крови 6 пациентов с ВИЧ-инфекцией, выявленной в возрасте до 1 года жизни, из Северо-Западного федерального округа Российской Федерации, направленные в Северо-Западный окружной центр по профилактике и борьбе со СПИДом (СЗОЦ СПИД) на базе Санкт-Петербургского научно-исследовательского института эпидемиологии и микробиологии имени Пастера в 2014–2016 гг. для коррекции АРВТ. Представленные в группе пациенты были направлены на определение лекарственной устойчивости вируса в связи с вирусологической неэффективностью АРВТ (вирусная нагрузка >50 МЕ/мл после 6 месяцев АРВТ или повышение вирусной нагрузки после первичного подавления репликации вируса).

Для всех образцов проводили предварительное концентрирование вируса ультрацентрифугированием плазмы крови в течение 1 ч при 24000g, +4°C. Выделение РНК ВИЧ-1 из клинического материала и обратную транскрипцию для получения кДНК проводили с использованием коммерческих наборов «РИБО-золь-Е» (ФБУН 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 обрат-

ной транскрипции и амплификации использовали коммерческие наборы «ОТ-ПЦР-комплект-Pro/Rev» и «ПЦР-комплект-Pro/Rev» (ФБУН 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 флюориметре Qubit 2.0 по стандартной методике, рекомендованной производителем. Очищенный фрагмент достаточной концентрации использовали для постановки секвенирующих реакций.

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

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 международной базе данных GenBank. Выравнивание нуклеотидных последовательностей проводили в программе MEGA версия 5, используя алгоритм ClustalW [18].

Результаты и обсуждение

При анализе по полу и возрасту показано, что 4 (66,67%) из детей принадлежат к женскому полу. У двух детей (33,33%), независимо от половой принадлежности, вирус был выявлен на первой неделе жизни, у остальных четырех — в возрасте до 1 года.

Для установления клинической стадии заболевания была применена стандартная клинико-иммунологическая классификация ВИЧ-инфекции у детей до 13 лет, используемая в РФ [19]. К моменту взятия клинических образцов для настоящего анализа у трех пациентов диагностирована клиническая стадия 4А, количество CD4(+) -клеток немногим превышало 25% от нормы и составило в среднем 1101 клеток/мкл. У двух пациентов мужского пола выявлена клиническая стадия 2В, количество CD4(+) -клеток менее 15%, у одной девочки наблюдалась стадия

4В – количество CD4(+)–клеток 96 клеток/мкл. Вирусная нагрузка, которая, как известно, строго коррелирует с количеством продуктивно инфицированных клеток и может служить одним из показателей прогрессирования ВИЧ-инфекции, во всех случаях значительно колебалась, в том числе от неопределяемого уровня до $2,03 \times 10^7$ копий/мл. Все пациенты получали антиретровирусную терапию с применением нуклеозидных и нунуклеозидных ингибиторов обратной транскриптазы (НИОТ и ННИОТ), а также ингибиторов протеазы (ИП). Однако только в одном случае терапия была начата сразу же, при выявлении ВИЧ-1, во всех остальных случаях от первого выявления инфицирования до начала АРВТ прошло от 0,5 до 3,5 лет, что не представляется целесообразным в терапии ВИЧ-инфекции. Во всех случаях была показана вирусологическая неэффективность АРВТ. При этом у трех пациентов был испробован один вариант терапии, у остальных – две, три и четыре схемы АРВТ соответственно. Следует отметить, что для девочки с клинической стадией 4В ранее были испробованы 4 схемы АРВТ, однако позднее начало (3,5 года после выявления ВИЧ-1) и низкая приверженность терапии привели к ухудшению состояния и прогрессированию заболевания и росту вирусной нагрузки до $1,7 \times 10^6$ копий/мл при показанной ранее минимальной нагрузке в $5,2 \times 10^3$ копий/мл. Подъем уровня вирусной нагрузки у всех больных стал поводом для направления клинических образцов пациентов на анализ фармакорезистентности вируса.

Для всех образцов была получена нуклеотидная последовательность фрагмента гена полимеразы, кодирующего ген протеазы и участок гена обратной транскриптазы, удовлетворительного качества, пригодная для дальнейшего анализа. Для всех образцов были определены субтипы ВИЧ-1. Во всех случаях был показан ВИЧ-1 субтипа А1, так называемого IDU-A, являющегося наиболее распространенным вариантом ВИЧ-1 в Российской Федерации. Среди полученных изолятов ВИЧ не были выявлены типичные мутации лекарственной устойчивости к НИОТ и ННИОТ. Только в одном случае (16,67%) обнаружена мутация лекарственной устойчивости к нуклеозидным ингибиторам обратной транскриптазы А62V, роль которого на данный момент считают существенной только при одновременном выявлении со значимыми мутациями фармакорезистентности. Еще в одном случае обнаружены минорные мутации устойчивости к ингибиторам протеазы L10LV и K20IK, предположительно способствующие низкому уровню устойчивости штамма ВИЧ к Нелфинавиру. То есть во всех обследованных случаях представленные варианты вируса, в целом, должны быть чувствительны практически ко всем препаратам, используемым в применяемых схемах АРВТ.

Показана высокая частота естественных полиморфных вариантов генов протеазы и обратной транскриптазы вируса среди представленных клинических образцов. Количество таких мутаций, по всей видимости, не зависит от количества используемых схем терапии, но обнаруживается некоторая корреляция с приверженностью к лечению. Например, у всех трех детей со средней приверженностью (70 – 90%) к терапии (1 и 3 схемы АРВТ) обнаружены по 10 естественных полиморфных вариантов в гене протеазы и 13 в гене обратной транскриптазы, а у двух пациентов с высокой приверженностью (1 и 2 схемы АРВТ) – 8 и 11 мутаций соответственно. При этом у пациентки с низкой приверженностью (<70%) к лечению, прошедшей четыре схемы АРВТ, обнаружены 12 мутаций в гене протеазы и 19 мутаций в гене обратной транскриптазы.

Интересно отметить, что среди естественных полиморфных вариантов представленных образцов, относящихся к субтипу А1, оказались широко распространены мутации гена протеазы, связанные с поддержкой лекарственной устойчивости субтипа В ВИЧ-1 [20] и рекомбинантной формы CRF_01 AE [21, 22]. Так, во всех образцах показаны мутации протеазы M36I, R41K, H69K и L89M, в пяти образцах E35D, в четырех образцах I13V, а также L63V/P/C/T. Реже представлены полиморфные варианты протеазы G16E и I93L (3 образца) и I15V (2 образца) (рис.).

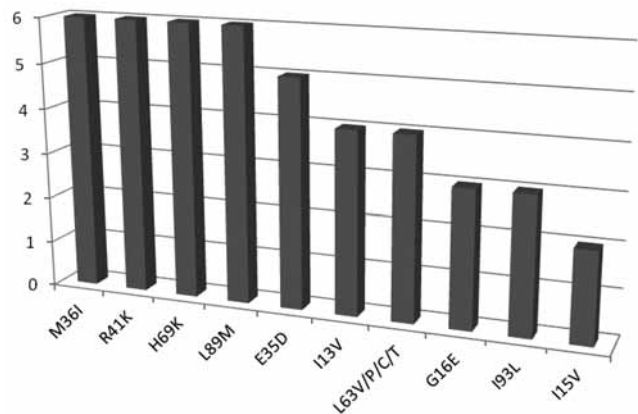


Рис. Наиболее часто встречающиеся естественные полиморфные варианты в области протеазы ВИЧ-1 у ВИЧ-инфицированных детей с неэффективной АРВТ

В регионе гена обратной транскриптазы таких замен не наблюдалось. Полученные данные согласуются с результатами работы зарубежных коллег, согласно которым, в регионе гена протеазы субтипа А1 ВИЧ встречаются естественные полиморфные варианты, связанные с лекарственной устойчивостью субтипа В, но являющиеся, по всей видимости, генетическими маркерами субтипа А1

[23]. Однако следует отметить, что у ВИЧ-1 субтипа В мутации протеазы I13V и L63P ранее тоже рассматривались как естественные полиморфные варианты, для которых позже было показано влияние на чувствительность к ингибиторам протеаз в отсутствие основных мутаций лекарственной устойчивости [24], в то время как было показано, что сочетание естественных полиморфных вариантов в гене протеазы L10V + I13V + L63P + I93L ведет к значительному снижению чувствительности и вирусологической неэффективности при использовании в начале терапии лопинавир/ритонавир-содержащих препаратов [25], а L89M показана как мутация устойчивости для типранавир/ритонавир [26], среди обследованных нами пациентов сочетание мутаций I13V + L63V/P/C/T + I93L показано в трех случаях, в каждом из которых в первой схеме АРВТ применялся препарат Калетра, сочетающий в себе в качестве действующих веществ лопинавир и ритонавир, а мутация L89M обнаружена, как уже было сказано выше, у всех шести больных.

Следует отметить, что в работах, показавших влияние упомянутых выше полиморфных вариантов гена протеазы на лекарственную устойчивость изолятов ВИЧ-1 рекомбинантных форм CRF_01 AE для поиска мутаций и для типирования вируса использовалась референс-программа HIVdb Program: Sequence Analysis, представленная на сайте лаборатории Стенфордского университета (<http://hivdb.stanford.edu/pages/algs/HIVdb.html>) и активно используемая международным сообществом, в то время как в работах российских исследователей было показано, что использование данной программы для генотипирования в случаях, не относящихся к ВИЧ-1 субтипа В, сомнительно, и изоляты, определенные посредством данной программы как CRF_01 AE в большинстве случаев, вероятнее всего, относятся к субтипу А1 варианта IDU-A [27]. Данное обстоятельство позволяет нам предположить, что описанные в этих публикациях изоляты на самом деле относились к редкому во всем мире, но широко распространенному в РФ субтипу А1 варианта IDU-A и, соответственно, выявленное в ходе работ влияние некоторых естественных полиморфных вариантов в гене протеазы на лекарственную устойчивость ВИЧ-1 имеет непосредственное отношение именно к циркулирующему на территории нашей страны субтипу ВИЧ. Наше предположение может быть подкреплено работами, сообщающими о появлении таких мутаций у АРВТ-наивных больных в Камеруне, инфицированных ВИЧ-1 не-В субтипа, и подчеркивающими необходимость исследований по оценке влияния этих мутаций на эффективность последующей АРВТ и на появление резистентных штаммов [28].

Еще одним фактором, подтверждающим наше предположение, может служить выявленная высокая распространенность и ассоциация с лекарственной устойчивостью естественных полиморфных вариантов в области протеазы L63T, V77I, I93L среди ВИЧ-1 варианта IDU-A по сравнению с субтипом А ВИЧ-1 в целом [29]. При этом естественные полиморфные варианты гена обратной транскриптазы, для которых в этом исследовании была показана высокая встречаемость среди ВИЧ-1 варианта IDU-A и существенная роль в лекарственной устойчивости вируса, также были обнаружены у обследованных нами пациентов. Так, вариант V35I выявлен у четырех, K166R у трех, S68G у двух больных соответственно.

Только один среди обследованных нами детей с сочетанным вариантом мутаций гена протеазы L63T + V77I + I93L и гена обратной транскриптазы V35I + K166R, несмотря на проводимую терапию и отсутствие значимых мутаций лекарственной устойчивости, согласно базе данных Стенфордского университета, демонстрировал высокую вирусную нагрузку — $2,03 \times 10^7$ копий/мл. Интересно отметить, что, несмотря на наличие мутации V77I в гене протеазы, у данного изолята не была выявлена мутация A62V в области обратной транскриптазы, несмотря на их частую совместную передачу [30].

Заключение

Среди обследованных детей с неэффективной АРВТ во всех случаях был показан ВИЧ-1 субтипа А1, так называемого варианта IDU-A. Ни у одного из пациентов не выявлены значимые мутации фармакорезистентности к НИОТ и ННИОТ, однако показаны естественные полиморфные варианты в регионах протеазы и обратной транскриптазы, широко распространенные среди ВИЧ-1 IDU-A и способные выступать в качестве мутаций лекарственной устойчивости.

Представляется целесообразным использовать при оценке профиля резистентности ВИЧ не только референс-программу HIVdb Program: Sequence Analysis, предложенную на сайте лаборатории Стенфордского университета, но и иные способы, направленные на анализ мутаций, ассоциированных с лекарственной устойчивостью ВИЧ-1 субтипа А1 варианта IDU-A, характерного для РФ.

Литература

1. Joint United Nations Programme on HIV/AIDS., United Nations. Global Report: UNAIDS Report on the Global AIDS epidemic: 2012. Geneva: UNAIDS; с 2012. 212 p.
2. Федеральный научно-методический центр по профилактике и борьбе со СПИДом ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Справка «ВИЧ-инфекция в Российской Федерации на 31 декабря 2015 г. По данным, предоставленным территориальными центрами по профилактике и борьбе со СПИД». 2015 г.

3. Хоффман, К. Лечение ВИЧ-инфекции 2009 / К. Хоффман, Ю.К. Рокштро. — М.: Р.Валент, 2010. — 648 с.
4. Joint United Nations Programme on HIV/AIDS., United Nations. Global Report: UNAIDS Report on the Global AIDS epidemic: 2013. Geneva: UNAIDS; c 2013. 198 p.
5. Goosby E. The President's Emergency Plan for AIDS Relief: marshalling all tools at our disposal toward an AIDS-free generation. *Health Aff (Millwood)*. 2012 Jul; 31(7):1593-8.
6. Zeng H, Chow EP, Zhao Y, Wang Y, Tang M, Li L, Tang X, Liu X, Zhong Y, Wang A, Lo YR, Zhang L. Prevention of mother-to-child HIV transmission cascade in China: a systematic review and meta-analysis. *Sex Transm Infect*. 2016 Mar; 92(2):116-23.
7. UNICEF. Progress for Children: Beyond Averages — Learning from the MDGs (No. 11). 2015 June; 68 p.
8. UNDP (United Nations Development Programme) World leaders adopt Sustainable Development Goals. Retrieved 2015 Sep.
9. Об утверждении инструкции по профилактике передачи ВИЧ инфекции от матери ребенку и образца информированного согласия на проведение химиопрофилактики ВИЧ: Приказ МЗ РФ от 19.12.2003 г. №606. — 126 с.
10. Prendergast AJ, Klenerman P, Goulder PJ. The impact of differential antiviral immunity in children and adults. *Nat Rev Immunol*. 2012 Sep; 12(9):636-48.
11. Newell ML, Coovadia H, Cortina-Borja M, Rollins N, Gaillard P, Dabis F; Ghent International AIDS Society (IAS) Working Group on HIV Infection in Women and Children. Mortality of infected and uninfected infants born to HIV-infected mothers in Africa: a pooled analysis. *Lancet*. 2004 Oct; 364(9441):1236-43.
12. Tobin NH, Aldrovandi GM. Immunology of pediatric HIV infection. *Immunol Rev*. 2013 Jul; 254(1):143-69.
13. Lowenthal ED, Bakeera-Kitaka S, Marukutira T, Chapman J, Goldrath K, Ferrand RA. Perinatally acquired HIV infection in adolescents from sub-Saharan Africa: a review of emerging challenges. *Lancet Infect Dis*. 2014 Jul; 14(7):627-39.
14. Lederman MM, Calabrese L, Funderburg NT, Clagett B, Medvik K, Bonilla H, Gripshover B, Salata RA, Taege A, Liscaris M, McComsey GA, Kirchner E, Baum J, Shive C, Asaad R, Kalayjian RC, Sieg SF, Rodriguez B. Immunologic failure despite suppressive antiretroviral therapy is related to activation and turnover of memory CD4 cells. *J. Infect. Dis*. 2011 Oct; 204(8):1217-26.
15. Rosenblatt HM, Stanley KE, Song LY, Johnson GM, Wiznia AA, Nachman SA, Krogstad PA; Pediatric AIDS Clinical Trials Group 377 Study Team. Immunological response to highly active antiretroviral therapy in children with clinically stable HIV-1 infection. *J. Infect. Dis*. 2005 Aug; 192(3):445-55.
16. World Health Organization, Department of Reproductive Health and Research. Male involvement in the prevention of mother-to-child transmission of HIV. Geneva: World Health Organization; c 2012. 30 p.
17. Cecchini DM, Zapiola I, Fernandez Giuliano S, Martinez MG, Rodriguez CG, Bouzas MB. Etravirine resistance mutations in HIV-infected pregnant women. *HIV Med*. 2013 Feb; 14(2):125-6.
18. Thompson JD, Higgins DG, Gibson TJ. CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Res*. 1994 Nov; 22(22):4673-80.
19. Update: vaccine side effects, adverse reactions, contraindications, and precautions. Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). *MMWR Recomm Rep*. 1996 Sep; 45(RR-12):1-35.
20. Paraskevis D, Magiorkinis E, Magiorkinis G, Sypsa V, Papanicolaou V, Lazanas M, Gargalianos P, Antoniadou A, Panos G, Chrysos G, Sambatakou H, Karafoulidou A, Skoutelis A, Kordosis T, Koratzanis G, Theodoridou M, Daikos GL, Nikolopoulos G, Pybus OG, Hatzakis A; Multicentre Study on HIV Heterogeneity. Increasing prevalence of HIV-1 subtype A in Greece: estimating epidemic history and origin. *J Infect Dis*. 2007 Oct; 196(8):1167-76.
21. Manosuthi W, Thongyen S, Nilkamhang S, Manosuthi S, Sungkanuparph S. HIV-1 drug resistance-associated mutations among antiretroviral-naïve Thai patients with chronic HIV-1 infection. *J Med Virol*. 2013; 85(2):194-9.
22. Sungkanuparph S, Sukasem C, Manosuthi W, Wiboonchutikul S, Piyavong B, Chantratita W. Tipranavir resistance associated mutations in protease inhibitor-naïve patients with HIV-1 subtype A/E infection. *J Clin Virol*. 2008 Nov; 43(3):284-6.
23. Davanos N, Panos G, Gogos CA, Mouzaki A. HIV-1 subtype characteristics of infected persons living in southwestern Greece. *HIV AIDS (Auckl)*. 2015 Dec; 7:277-83.
24. Sutherland KA, Mbisa JL, Cane PA, Pillay D, Parry CM. Contribution of Gag and protease to variation in susceptibility to protease inhibitors between different strains of subtype B human immunodeficiency virus type 1. *J Gen Virol*. 2014 Jan; 95(Pt 1):190-200.
25. Alteri C, Artese A, Beheydt G, Santoro MM, Costa G, Parrotta L, Bertoli A, Gori C, Orchi N, Girardi E, Antinori A, Alcaro S, d'Arminio Monforte A, Theys K, Vandamme AM, Ceccherini-Silberstein F, Svicher V, Perno CF. Structural modifications induced by specific HIV-1 protease-compensatory mutations have an impact on the virological response to a first-line lopinavir/ritonavir-containing regimen. *J Antimicrob Chemother*. 2013 Oct; 68(10):2205-9.
26. Johnson VA, Brun-Vézinet F, Clotet B, Günthard HF, Kuritzkes DR, Pillay D, Schapiro JM, Richman DD. Update of the drug resistance mutations in HIV-1: December 2010. *Top HIV Med*. 2010 Dec; 18(5):156-63.
27. Казеннова, Е.В. Проблемы субтипирования ВИЧ-1 на основе анализа гена *pol* и способы их разрешения / Е.В. Казеннова, И.А. Лаповок, А.В. Васильев // ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии. — 2010. — Т. 2. № 3. — С. 42 — 48.
28. Turriziani O, Russo G, Lichtner M, Stano A, Tsague G, Maida P, Vullo V, Antonelli G. Study of the genotypic resistant pattern in HIV-infected women and children from rural west Cameroon. *AIDS Res Hum Retroviruses* 2008 Jun; 24(6):781-5.
29. Казеннова, Е.В. Естественные полиморфизмы гена *pol* варианта ВИЧ-1 IDU-A / Е.В. Казеннова, И.А. Лаповок, В.Ю. Лага // ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии. — 2012. — Т. 4. № 4. — С. 44 — 51.
30. Суханова, А.А. Полиморфизм области генома, кодирующей протеазу и обратную транскриптазу, вариантов ВИЧ-1 подтипа А, распространенных на территории СНГ / А.А. Суханова, Н.И. Рудинский, Е.В. Богословская // Молекул. биол. — 2005. — Т. 39, № 6. — С. 1063 — 1071.

References

1. Joint United Nations Programme on HIV/AIDS., United Nations. Global Report: UNAIDS Report on the Global AIDS epidemic: 2012. Geneva: UNAIDS; c 2012. 212 p.
2. The Federal Scientific and Methodological Center for Prevention and Control of AIDS FBUN Central Research Institute of Epidemiology. Reference «HIV infection in the Russian Federation on December 31, 2015. According to data provided by the regional centers for prevention and control of AIDS». 2015 (in Russian).
3. Hoffmann C., Rockstroh J.K. HIV Treatment 2009. R.Valent. Moscow; 2010 (in Russian).
4. Joint United Nations Programme on HIV/AIDS., United Nations. Global Report: UNAIDS Report on the Global AIDS epidemic: 2013. Geneva: UNAIDS; c 2013. 198 p.

5. Goosby E. The President's Emergency Plan for AIDS Relief: marshalling all tools at our disposal toward an AIDS-free generation. *Health Aff (Millwood)*. 2012 Jul; 31(7):1593-8.
6. Zeng H, Chow EP, Zhao Y, Wang Y, Tang M, Li L, Tang X, Liu X, Zhong Y, Wang A, Lo YR, Zhang L. Prevention of mother-to-child HIV transmission cascade in China: a systematic review and meta-analysis. *Sex Transm Infect*. 2016 Mar; 92(2):116-23.
7. UNICEF. Progress for Children: Beyond Averages – Learning from the MDGs (No. 11). 2015 June; 68 p.
8. UNDP (United Nations Development Programme) World leaders adopt Sustainable Development Goals. Retrieved 2015 Sep.
9. On approval of the instruction on the prevention of HIV transmission from mother to child and sample informed consent for HIV chemoprophylaxis: Order of the RF Ministry of Health from 19.12.2003. №606. P. 126 (in Russian).
10. Prendergast AJ, Klenerman P, Goulder PJ. The impact of differential antiviral immunity in children and adults. *Nat Rev Immunol*. 2012 Sep; 12(9):636-48.
11. Newell ML, Coovadia H, Cortina-Borja M, Rollins N, Gaillard P, Dabis F; Ghent International AIDS Society (IAS) Working Group on HIV Infection in Women and Children. Mortality of infected and uninfected infants born to HIV-infected mothers in Africa: a pooled analysis. *Lancet*. 2004 Oct; 364(9441):1236-43.
12. Tobin NH, Aldrovandi GM. Immunology of pediatric HIV infection. *Immunol Rev*. 2013 Jul; 254(1):143-69.
13. Lowenthal ED, Bakeera-Kitaka S, Marukutira T, Chapman J, Goldrath K, Ferrand RA. Perinatally acquired HIV infection in adolescents from sub-Saharan Africa: a review of emerging challenges. *Lancet Infect Dis*. 2014 Jul; 14(7):627-39.
14. Lederman MM, Calabrese L, Funderburg NT, Clagett B, Medvik K, Bonilla H, Gripshover B, Salata RA, Taege A, Liscgaris M, McComsey GA, Kirchner E, Baum J, Shive C, Asaad R, Kalayjian RC, Sieg SF, Rodriguez B. Immunologic failure despite suppressive antiretroviral therapy is related to activation and turnover of memory CD4 cells. *J. Infect. Dis*. 2011 Oct; 204(8):1217-26.
15. Rosenblatt HM, Stanley KE, Song LY, Johnson GM, Wiznia AA, Nachman SA, Krogstad PA; Pediatric AIDS Clinical Trials Group 377 Study Team. Immunological response to highly active antiretroviral therapy in children with clinically stable HIV-1 infection. *J. Infect. Dis*. 2005 Aug; 192(3):445-55.
16. World Health Organization, Department of Reproductive Health and Research. Male involvement in the prevention of mother-to-child transmission of HIV. Geneva: World Health Organization; c 2012. 30 p.
17. Cecchini DM, Zapiola I, Fernandez Giuliano S, Martinez MG, Rodriguez CG, Bouzas MB. Etravirine resistance mutations in HIV-infected pregnant women. *HIV Med*. 2013 Feb; 14(2):125-6.
18. Thompson JD, Higgins DG, Gibson TJ. CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Res*. 1994 Nov; 22(22):4673-80.
19. Update: vaccine side effects, adverse reactions, contraindications, and precautions. Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). *MMWR Recomm Rep*. 1996 Sep; 45(RR-12):1-35.
20. Paraskevis D, Magiorkinis E, Magiorkinis G, Sypsa V, Papanicolaou V, Lazanas M, Gargalianos P, Antoniadou A, Panos G, Chrysos G, Sambatakou H, Karafoulidou A, Skoutelis A, Korodossis T, Koratzanis G, Theodoridou M, Daikos GL, Nikolopoulos G, Pybus OG, Hatzakis A; Multicentre Study on HIV Heterogeneity. Increasing prevalence of HIV-1 subtype A in Greece: estimating epidemic history and origin. *J Infect Dis*. 2007 Oct; 196(8):1167-76.
21. Manosuthi W, Thongyen S, Nilkamhang S, Manosuthi S, Sungkanuparph S. HIV-1 drug resistance-associated mutations among antiretroviral-naïve Thai patients with chronic HIV-1 infection. *J Med Virol*. 2013; 85(2):194-9.
22. Sungkanuparph S, Sukasem C, Manosuthi W, Wiboonchutikul S, Piyavong B, Chantratita W. Tipranavir resistance associated mutations in protease inhibitor-naïve patients with HIV-1 subtype A/E infection. *J Clin Virol*. 2008 Nov; 43(3):284-6.
23. Davanos N, Panos G, Gogos CA, Mouzaki A. HIV-1 subtype characteristics of infected persons living in southwestern Greece. *HIV AIDS (Auckl)*. 2015 Dec; 7:277-83.
24. Sutherland KA, Mbisa JL, Cane PA, Pillay D, Parry CM. Contribution of Gag and protease to variation in susceptibility to protease inhibitors between different strains of subtype B human immunodeficiency virus type 1. *J Gen Virol*. 2014 Jan; 95(Pt 1):190-200.
25. Alteri C, Artese A, Beheydt G, Santoro MM, Costa G, Parrotta L, Bertoli A, Gori C, Orchi N, Girardi E, Antinori A, Alcaro S, d'Arminio Monforte A, Theys K, Vandamme AM, Ceccherini-Silberstein F, Svicher V, Perno CF. Structural modifications induced by specific HIV-1 protease-compensatory mutations have an impact on the virological response to a first-line lopinavir/ritonavir-containing regimen. *J Antimicrob Chemother*. 2013 Oct; 68(10):2205-9.
26. Johnson VA, Brun-Vézinet F, Clotet B, Günthard HF, Kuritzkes DR, Pillay D, Schapiro JM, Richman DD. Update of the drug resistance mutations in HIV-1: December 2010. *Top HIV Med*. 2010 Dec; 18(5):156-63.
27. Kazennova E.V. HIV and immunosuppression. 2010; 2(3): 42-8 (in Russian).
28. Turriziani O, Russo G, Lichtner M, Stano A, Tsague G, Maida P, Vullo V, Antonelli G. Study of the genotypic resistant pattern in HIV-infected women and children from rural west Cameroon. *AIDS Res Hum Retroviruses* 2008 Jun; 24(6):781-5.
29. Kazennova E.V. HIV and immunosuppression. 2012; 4(4): 44-51 (in Russian).
30. Sukhanova A.L. *Molecular Biology*. 2005; 39(6):1063-71 (in Russian).

Авторский коллектив:

Останкова Юлия Владимировна — научный сотрудник лаборатории молекулярной иммунологии Санкт-Петербургского научно-исследовательского института эпидемиологии и микробиологии имени Пастера; тел.: 8(812) 233-20-92, e-mail: shenna1@yandex.ru

Семенов Александр Владимирович — заведующий лабораторией вирусологии и иммунологии ВИЧ-инфекции Санкт-Петербургского научно-исследовательского института эпидемиологии и микробиологии имени Пастера; доцент кафедры иммунологии Первого Санкт-Петербургского государственного медицинского университета имени академика И.П. Павлова; доцент кафедры

клинической лабораторной диагностики Северо-Западного государственного медицинского университета им. И.И. Мечникова, к.б.н.; тел.: 8(812)233-34-83, e-mail: alexvsemenov@yahoo.com

Чурина Мария Александровна — врач клинической лабораторной диагностики отделения диагностики ВИЧ-инфекции и СПИД-ассоциированных заболеваний, младший научный сотрудник лаборатории иммунологии и вирусологии ВИЧ-инфекции Санкт-Петербургского научно-исследовательского института эпидемиологии и микробиологии имени Пастера; тел.: 8(812)233-34-83, e-mail: churina.mari@yandex.ru

Толоян Арег Артемович — заведующий лабораторией молекулярной иммунологии, директор Санкт-Петербургского научно-исследовательского института эпидемиологии и микробиологии имени Пастера; заведующий кафедрой иммунологии Первого Санкт-Петербургского государственного медицинского университета имени академика И.П. Павлова, д.м.н., профессор, академик РАН; тел.: 8(812)232-00-66, e-mail: totolian@pasteurorg.ru