

УДК 001.891.57: 616-022.371: 614.38

© Коллектив авторов, 2026

ПОВЫШЕНИЕ ДОСТОВЕРНОСТИ И ИНФОРМАТИВНОСТИ РЕЗУЛЬТАТОВ ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКОГО АНАЛИЗА ПРИ РАССЛЕДОВАНИИ ВНУТРИБОЛЬНИЧНЫХ ОЧАГОВ ВИЧ-ИНФЕКЦИИ

Киреев Д.Е., Кириченко А.А., Лаповок И.А., Лопатухин А.Э., Сыркина А.В., Шлыкова А.В., Акимкин В.Г.

ФБУН Центральный НИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва, Россия

Аннотация

С 2010-го года в ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора исследование очагов ВИЧ-инфекции, предположительно связанных с оказанием медицинской помощи, осуществляется с использованием филогенетического анализа. К 31.12.2024 было расследовано 84 очага, из которых 68 – успешно (в 48 очагах была подтверждена эпидемиологическая связь между потенциальным источником и реципиентом, в 20 очагах связь исключена). Целью настоящей работы являлся ретроспективный анализ документации, собранной в ходе расследования очагов, а также нуклеотидных последовательностей ВИЧ-1, полученных от ВИЧ-инфицированных лиц исследуемой группы и контрольной группы. Было показано, что невозможно установление единственного порога генетического сходства для проведения оценки наличия/отсутствия эпидемиологической связи между реципиентом и потенциальным источником. Кроме того, было определено, что скорость роста генетической дистанции между нуклеотидными последовательностями ВИЧ-1 от эпидемиологически связанных ВИЧ-инфицированных лиц в консервативном регионе *pol* составляет 0,41% в год, в вариабельном регионе *env* – 2,03% в год. Использование этих данных позволяет повысить достоверность и информативность результатов филогенетического анализа при расследовании внутрибольничных очагов.

Ключевые слова:

ВИЧ-инфекция, филогенетический анализ, эпидемиологический надзор.

INCREASING THE RELIABILITY AND INFORMATIVENESS OF THE RESULTS OF PHYLOGENETIC ANALYSIS IN THE INVESTIGATION OF NOSOCOMIAL FOCI OF HIV INFECTION

Kireev D.E., Kirichenko A.A., Lapovok I.A., Lopatukhin A.E., Syrkina A.V., Shlykova A.V., Akimkin V.G.

Central Research Institute of Epidemiology of Rospotrebnadzor, Moscow, Russia

Abstract

Since 2010, the Central Research Institute of Epidemiology of Rospotrebnadzor has been investigating foci of HIV infection, presumably related to the provision of medical care, using phylogenetic analysis. By 31.12.2024, 84 foci had been investigated, of which 68 were successful (in 48 foci, an epidemiological link between the potential source and the recipient was confirmed, in 20 foci the link was excluded). The purpose of this work was a retrospective analysis of the documentation collected during the investigation of foci, as well as HIV-1 nucleotide sequences obtained from HIV-infected individuals in the study group and the control group. It has been shown that it is impossible to establish a single threshold of genetic similarity to assess the presence/absence of an epidemiological link between the recipient and the potential source. In addition, it was determined that the growth rate of the genetic distance between HIV-1 nucleotide sequences from epidemiologically related HIV-infected individuals in the conservative *pol* region is 0.41% per year, in the variable *env* region – 2.03% per year. The use of these data makes it possible to increase the reliability and informativeness of the results of phylogenetic analysis in the investigation of nosocomial foci.

Keywords:

HIV infection, phylogenetic analysis, epidemiological surveillance.

ВВЕДЕНИЕ

Несмотря на то, что основными эпидемиологически значимыми путями передачи ВИЧ-1 в мире являются парентеральный при употреблении психоактивных препаратов и половой, случаи передачи вируса при оказании медицинской помощи регистрируются достаточно часто с формированием групповых очагов ВИЧ-инфекции. В СССР

первым таким очагом была «Элистинская вспышка», в ходе которой было инфицировано ВИЧ-1 более 260 детей и их матерей [1]. В настоящее время такие случаи продолжают происходить во всем мире, включая Российскую Федерацию [2]. До 2010-го года в России исследование случаев заражения ВИЧ-1 при оказании медицинской помощи осуществлялось путем проведения эпидеми-

ологического расследования, которое было четко регламентировано в 2007-м году методическими рекомендациями № 6963-РХ «Эпидемиологическое расследование случая ВИЧ-инфекции и проведение противоэпидемических мероприятий» [3]. Использование молекулярно-биологических и биоинформатических методов в этом документе ограничивалось рекомендацией проведения генотипирования ВИЧ-1. При этом, в случае если предполагаемый источник инфекции и исследуемый инфицированный имели разные субтипы вируса, делался вывод о том, что заражение произошло из разных источников. Такой подход был малоэффективен, поскольку на территории страны в этот период более чем в 80% случаев циркулировал (и продолжает циркулировать) вирус суб-субтипа А6 [4]. В то же время за рубежом уже с 1990-го года успешно применялся филогенетический анализ для оценки возможности наличия эпидемиологической связи между потенциальным источником и реципиентом инфекции [5, 6].

В 2010-м году нами был проведен анализ зарубежного опыта применения биоинформатических методов в ходе расследований очагов инфекции, предположительно связанных с оказанием медицинской помощи, и впервые в Российской Федерации применен филогенетический анализ для верификации выводов, сделанных в ходе классического эпидемиологического расследования. В течение нескольких лет в рамках расследований нозокомиальных случаев инфицирования проводилась стандартизация использования молекулярных и биоинформатических методов [7, 8]. Они были адаптированы под существующую в стране систему организации эпидемиологического надзора, доступные лабораторные методики и особенности циркулирующих вариантов ВИЧ-1. Результатом этой работы стало создание раздела в методических указаниях 3.1.3342-16 «Эпидемиологический надзор за ВИЧ-инфекцией», посвященного использованию филогенетического анализа при проведении эпидемиологического расследования случаев ВИЧ-инфекции, который позднее был дополнительно уточнен [9, 10].

Применение филогенетического анализа при расследованиях внутрибольничных очагов возможно благодаря генетической изменчивости ВИЧ-1. При этом в ходе анализа группы ВИЧ-инфицированных лиц, обнаруживаются пациенты, имеющие вирусы с высоким генетическим сходством. Считается, что между такими пациентами присутствует эпидемиологическая связь. На основании результатов популяционных исследова-

ний предлагаются различные пороги для выявления групповых очагов болезни. Наиболее часто в работах для этого используются пороги на уровне 1,5% [11] и 2% [12].

Однако при расследованиях внутрибольничных очагов ВИЧ-инфекции не применяется какой-либо определенный порог для выявления наличия/отсутствия эпидемиологической связи, в каждой работе он подбирается исследователями индивидуально. Существует значительное количество публикаций на тему расследований очагов с помощью филогенетического анализа, однако биоинформатический анализ проводится по нестандартизированной технологии, кроме того, в исследованиях для анализа используются различные фрагменты генома ВИЧ-1. Эти различия дополнительно осложняют сопоставление результатов исследований между собой. В связи с этим с целью анализа степени генетического сходства нуклеотидных последовательностей ВИЧ-1, полученных от реципиента и источника инфекции, нами были проанализированы материалы, накопившиеся в ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора за 15 лет применения филогенетического анализа при расследовании очагов, предположительно связанных с оказанием медицинской помощи.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Анализ документации, собранной в ходе 84 эпидемиологических расследований внутрибольничных очагов ВИЧ-инфекции, проводился с целью сбора следующей информации: размер исследуемой группы, размер контрольной группы, дата забора крови для проведения секвенирования, временной период предполагаемого инфицирования реципиента с точностью до месяца.

Нуклеотидные последовательности регионов pol (позиции 2253-3369 согласно штамму HXB2, accession # K03455) и env (позиции 6954-7370 согласно штамму HXB2, accession # K03455) ВИЧ-1, ранее полученные в ходе расследования 84 очагов, были выгружены из Российской базы данных устойчивости ВИЧ к антиретровирусным препаратам RuHIV (<https://ruhiv.ru/>).

Секвенирование ВИЧ-1 в ходе расследований очагов во всех случаях осуществлялось с помощью набора реагентов «АмплиСенс HIV-Resist-Seq» согласно инструкции производителя.

Редактирование и выравнивание нуклеотидных последовательностей ВИЧ-1 проводилось в ПО BioEdit 7.2.0, определение субтипа вируса – в базе данных университета Стэнфорда (<https://hivdb.stanford.edu/>), а филогенетический анализ и расчет генетического сходства осуществлялся

в ПО MEGA 6.06. Генетическое сходство оценивалось путем расчета p-distance с применением pairwise deletion. Статистический анализ был выполнен в Microsoft Excel.

Расследование очагов с применением филогенетического анализа включало в себя следующие этапы: проводилось секвенирование двух регионов генома ВИЧ-1 – консервативного pol и вариабельного env от ВИЧ-инфицированных пациентов исследуемой группы (реципиент/ы и потенциальный/е источник/и) и контрольной группы. Все полученные нуклеотидные последовательности ВИЧ-1 выравнивались, обрезались по протяженности самой короткой, а затем производилось построение филогенетического дерева (метод максимального правдоподобия, поддержка ветвей 100, модель GTR+G+I). Считалось, что нуклеотидные последовательности от реципиента/ов и потенциального источника образовывали молекулярный кластер, если они группировались в отдельную кладу с достоверностью поддержки ветвей не ниже 80% (bootstrap $\geq 80\%$).

РЕЗУЛЬТАТЫ

В период с 2010-го по 2024-й год филогенетический анализ был использован в качестве дополнительного инструмента при расследовании 84 очагов инфекции, предположительно связанных с оказанием медицинской помощи. Динамика регистрации очагов представлена на рисунке 1.

Среди проанализированных 84 очагов секвенирование и последующий филогенетический анализ были успешно завершены для 68 очагов (81,0%

случаев). В остальных 16 случаях расследование не было завершено по таким причинам, как невозможность получения образцов крови от всех потенциальных источников инфекции или реципиентов (12 случаев), либо невозможность получения нуклеотидных последовательностей вируса (4 случая). Среди 68 очагов для 48 из них по результатам филогенетического анализа была установлена эпидемиологическая связь между потенциальным источником и реципиентом (реципиентами), в 20 очагах потенциальный источник и реципиент не имели эпидемиологической связи.

Расследованные очаги значительно различались по количеству человек, входящих в исследуемую и контрольную группы. В проанализированных 68 очагах размер исследуемой группы колебался в диапазоне от 2 до 65 человек (медиана 3 чел., среднее количество 6 чел.), а размер контрольной группы – от 6 до 48 человек (медиана 13 чел., среднее количество 15 чел.). Среди пациентов, для которых было проведено секвенирование ВИЧ-1, 413 относились к исследуемым группам, 1016 – к контрольным группам.

Далее был проведен анализ документации успешно расследованных очагов. Были проанализированы временные характеристики очагов: периоды их возникновения, регистрации и локализации. Достаточная информация присутствовала в сопроводительной документации в отношении 39 очагов.

Промежуток времени между возникновением очага инфекции (инфицированием реципиен-

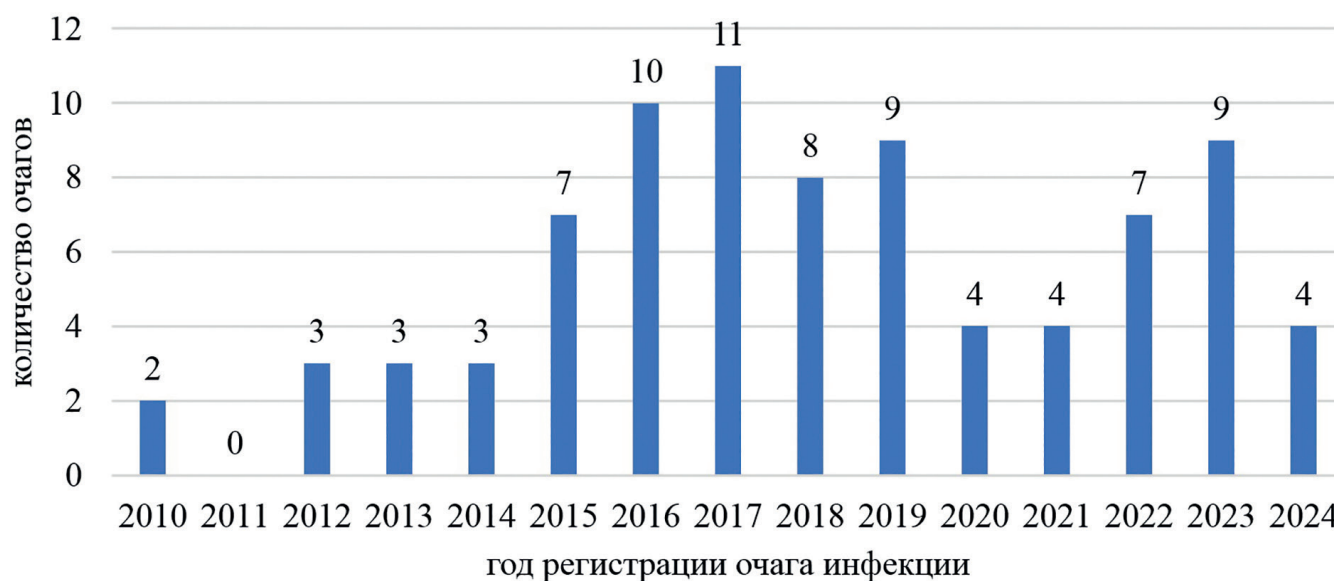


Рис. 1. Динамика регистрации очагов ВИЧ-инфекции, предположительно связанных с оказанием медицинской помощи, расследованных с применением филогенетического анализа

та) и его регистрацией (часто совпадал с забором крови для проведения секвенирования ВИЧ-1) значительно варьировал и находился в диапазоне между 1 и 49 месяцами (медиана 8 мес., среднее значение 13 мес.).

Для каждого очага было рассчитано генетическое сходство между нуклеотидными последовательностями ВИЧ-1, полученными от реципиента/реципиентов и потенциальных источников (таблица 1).

Результаты анализа показали, что по региону pol в случае формирования молекулярного кластера, включающего нуклеотидные последовательности реципиента и какого-либо из предполагаемых источников инфекции, генетическое сходство между ними находилось в диапазоне 97,3-100%. В случае отсутствия формирования такого кластера генетическое сходство между последовательностью реципиента и наиболее генетически близким потенциальным источником варьировало в диапазоне 94,0-97,9%. При этом диапазон генетического сходства между образцом от реципиента и наиболее близким образцом контрольной группы составлял 85,2-98,7%.

По региону env в случае формирования молекулярного кластера, включающего нуклеотидные последовательности реципиента и какого-либо из источников инфекции, генетическое сходство между ними находилось в диапазоне 89,3-100%. В случае отсутствия формирования такого кластера генетическое сходство между последовательностью реципиента и наиболее генетически близким потенциальным источником варьировало в диапазоне 80,3-94,3%. При этом диапазон генетического сходства между образцом от реципиента и наиболее близким образцом контрольной группы составлял 64,5-97,5%.

Полученные результаты показывают, что в очагах, где была обнаружена связь между реципиентом и потенциальным источником, по обоим регионам генома вируса диапазоны генетического сходства пересекались:

- по региону pol для пар реципиент-источник – 97,3-100%, для реципиента с контрольной группой – 85,2-98,7%,
- по региону env для пар реципиент-источник – 89,3-100%, для реципиента с контрольной группой – 64,5-97,5%.

Таблица 1

Генетическое сходство нуклеотидной последовательности ВИЧ-1 реципиента с нуклеотидными последовательностями ВИЧ-1 потенциальных источников и пациентов контрольной группы по регионам pol и env

генетическое сходство нуклеотидных последовательностей ВИЧ-1	минимум, %	максимум, %	среднее значение, %
между реципиентом и источником в случае НАЛИЧИЯ эпидемиологической связи (регион pol)	97,3	100,0	99,4
между реципиентом и потенциальным источником в случае ОТСУТСТВИЯ эпидемиологической связи (регион pol)	94,0	97,9	95,7
между реципиентом и ВИЧ-инфицированным контрольной группы (регион pol)	85,2	98,7	93,4
между реципиентом и источником в случае НАЛИЧИЯ эпидемиологической связи (регион env)	89,3	100,0	96,7
между реципиентом и потенциальным источником в случае ОТСУТСТВИЯ эпидемиологической связи (регион env)	80,3	94,3	88,4
между реципиентом и ВИЧ-инфицированным контрольной группы (регион env)	64,5	97,5	85,2

Кроме этого, был проведен анализ зависимости генетического сходства между нуклеотидными последовательностями ВИЧ-1, полученными от эпидемиологически связанных реципиента и источника, и временем между передачей вируса, установленной на основании результатов эпидемиологических исследований, и забором крови для проведения секвенирования вируса. На рисунках 2 и 3 представ-

лены результаты для регионов pol и env соответственно. Снижение генетического сходства наблюдается для обоих регионов, однако для более консервативного региона pol оно происходит с меньшей скоростью. Как видно на рисунке 2, для региона pol генетическое сходство падает, однако остается выше 98,5% для всех пар реципиент-источник в пределах 48 месяцев после передачи вируса.

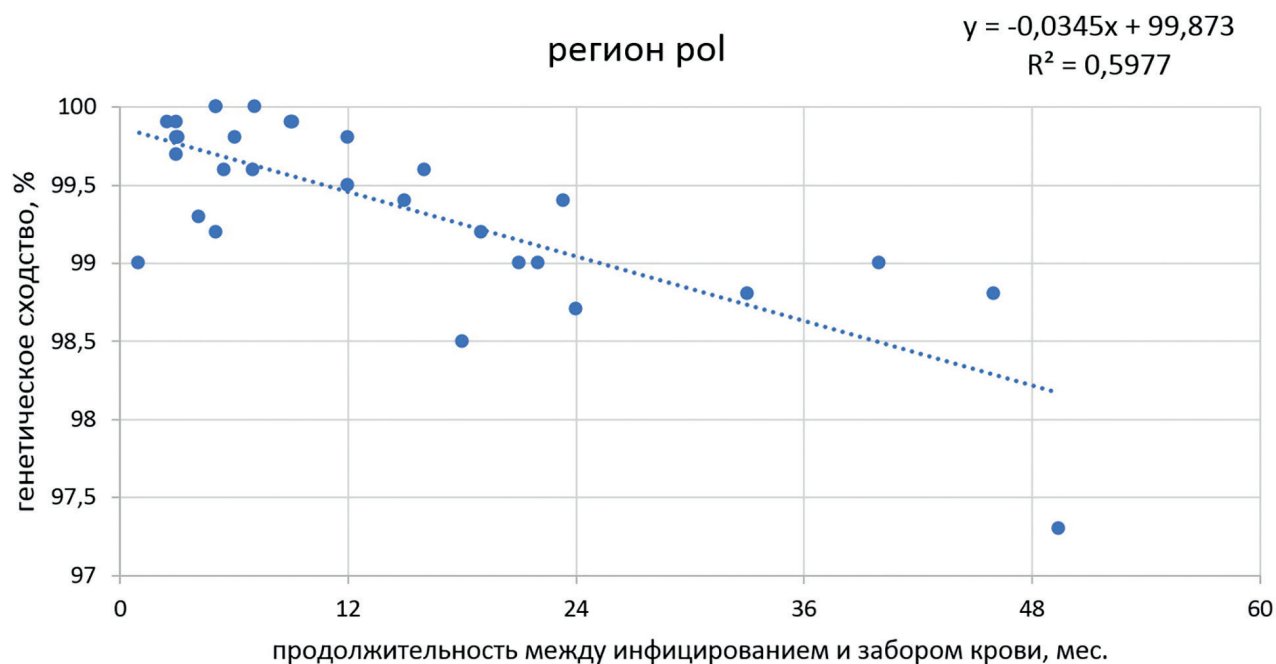


Рис. 2. Взаимосвязь генетического сходства нуклеотидных последовательностей региона pol для пар реципиент-источник в зависимости от времени, прошедшего у реципиента между инфицированием и забором крови для проведения секвенирования ВИЧ-1

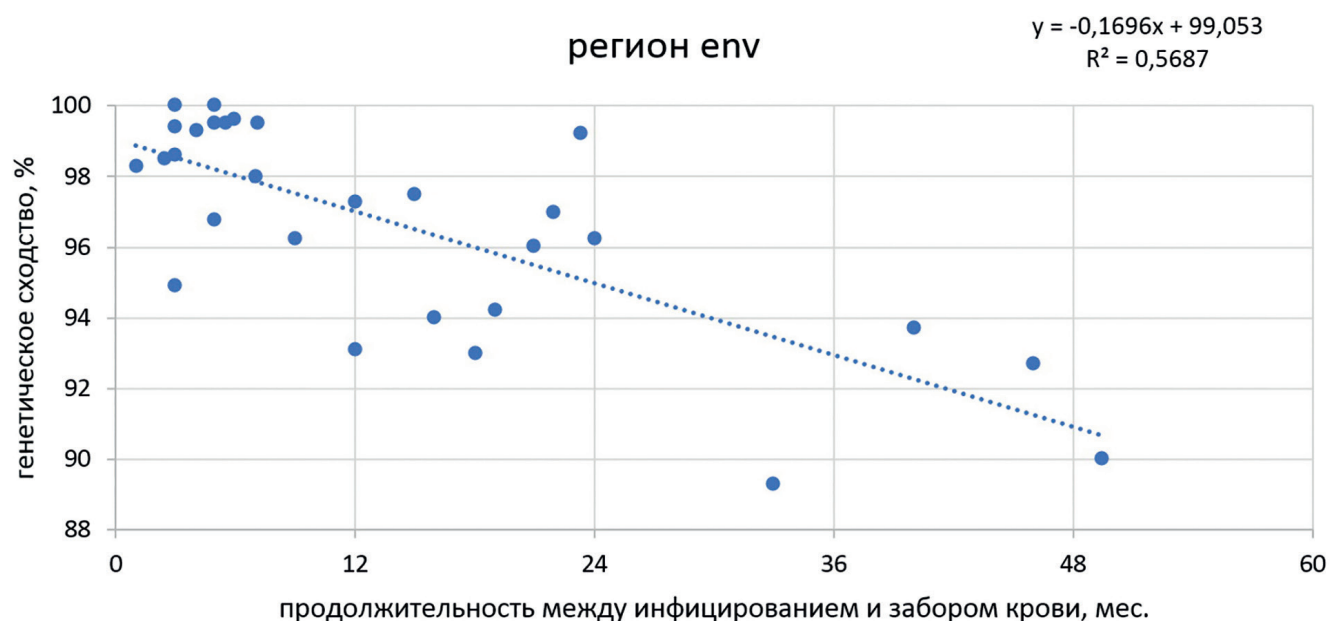


Рис. 3. Взаимосвязь генетического сходства нуклеотидных последовательностей региона env для пар реципиент-источник в зависимости от времени, прошедшего у реципиента между инфицированием и забором крови для проведения секвенирования ВИЧ-1

Для региона env генетическое сходство в тот же период времени снижается до уровня 93% и в отдельных случаях даже ниже, что подтверждает литературные данные о значительно более высокой скорости эволюции генов, кодирующих поверхностные белки ВИЧ-1 [13].

Анализ выборки показал, что средний рост генетической дистанции за 12 месяцев у нуклеотидных последовательностей от эпидемиологически связанных пациентов, не принимавших антиретровирусные препараты, по региону pol составил 0,41%, а по региону env 2,03%.

ОБСУЖДЕНИЕ

В ходе работы был проведен ретроспективный анализ сопроводительной документации 84 эпидемиологических расследований внутрибольничных очагов ВИЧ-инфекции, расследованных в ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии в период с 2010 по 2024 гг., а также нуклеотидных последовательностей ВИЧ-1, полученных в ходе секвенирования клинических образцов от ВИЧ-инфицированных лиц исследуемых и контрольных групп. В расследовании 68 из 84 очагов филогенетический анализ был применен успешно. В тех случаях, когда филогенетический анализ не был завершен, наиболее частой причиной являлась невозможность сбора необходимого вида клинического материала (цельной крови у ВИЧ-инфицированных лиц с недетектируемой вирусной нагрузкой). Необходимая информация, позволяющая оценить продолжительность инфекции у реципиента с точностью до месяца, присутствовала в документации 39 очагов.

На первом этапе был проведен анализ генетического сходства между нуклеотидными последовательностями ВИЧ-1 от реципиентов, потенциального источника и ВИЧ-инфицированных лиц контрольной группы. Было показано, что при расследовании очагов инфекции невозможно установить постоянный порог генетического сходства, который мог бы быть использован для оценки связанности между двумя ВИЧ-инфицированными лицами. При расследовании каждого конкретного очага этот порог будет индивидуален. В то же время, во всех случаях расследования очагов, где обнаруживался молекулярный кластер из последовательностей региона pol (и в 25 из 29 случаев по региону env), включающий реципиента и потенциального источника, генетическое сходство последовательностей внутри кластера было выше, чем генетическое сходство с образцами контрольной группы. В очагах, где реципиент и потенциальный источник не обра-

зовывали единый кластер, генетическое сходство между ними было сопоставимо с генетическим сходством нуклеотидной последовательности реципиента и образцами контрольной группы.

На втором этапе была проведена оценка скорости вирусной эволюции и роста генетической дистанции между нуклеотидными последовательностями ВИЧ-1, полученными от эпидемиологически связанных ВИЧ-инфицированных лиц, не имевших на момент исследования опыта приема антиретровирусных препаратов. Полученные результаты показали, что средний рост генетической дистанции за 12 месяцев в консервативном регионе pol составил 0,41%, а в переменном регионе env 2,03%. В целом, такие результаты согласовываются с ранее проведенными исследованиями, в которых скорость эволюции в регионе env находилась в диапазоне 0,99%-2,04% в год [14], а в регионе pol была в среднем в 3-4 раза ниже, чем в регионе env [15]. В то же время важно уточнить, что результаты нашей работы основаны на нуклеотидных последовательностях, полученных с помощью набора реагентов «Ампли-Сенс HIV-Resist-Seq», широко распространенного и наиболее часто используемого в ходе расследований внутрибольничных очагов ВИЧ-инфекции в Российской Федерации.

Информацию о степени генетического сходства следует использовать для дополнительной верификации результатов проведенного эпидемиологического расследования внутрибольничных очагов. Лабораториям, осуществляющим секвенирование ВИЧ-1 и филогенетический анализ, можно рекомендовать указывать в заключении степень генетического сходства между нуклеотидными последовательностями ВИЧ-1, полученными от реципиента и источника. Кроме того, совместно с эпидемиологами, осуществляющими расследование, полезно осуществлять сопоставление этих цифр с предполагаемой давностью заражения реципиента.

Литература

1. Внутрибольничная вспышка ВИЧ-инфекции в Элисте / В.В. Покровский, И.Ю. Ерамова, М.О. Деулина [и др.] // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 1990. – Т. 67. – № 4. – С. 17-23.
2. Ладная, Н.Н. Передача ВИЧ-инфекции, связанной с оказанием медицинской помощи, в Российской Федерации / Н. Н. Ладная, Е. В. Соколова, В.В. Покровский // Контроль и профилактика

- инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи (ИСМП-2023) : Сб. тезисов XI конгресса с международным участием, Москва, 23–24 ноября 2023 года. – Москва: Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии Роспотребнадзора, 2023. – С. 53–54.
3. Методические рекомендации МР № 6963-РХ «Эпидемиологическое расследование случая ВИЧ-инфекции и проведение противоэпидемических мероприятий» от 20 сентября 2007 года.
 4. Lebedev A, Kireev D, Kirichenko A, et al. The Molecular Epidemiology of HIV-1 in Russia, 1987–2023: Subtypes, Transmission Networks and Phylogenetic Story. *Pathogens*. 2025;14(8):738.
 5. Molecular epidemiology of HIV transmission in a dental practice / C. Y. Ou, C. A. Ciesielski, G. Myers [et al.] // *Science*. – 1992. – Vol. 256, № 5060. – P. 1165–1171.
 6. Molecular investigation of transmission of human immunodeficiency virus type 1 in a criminal case / R. Machuca, L.B. Jørgensen, P. Theilade, C. Nielsen // *Clinical and diagnostic laboratory immunology*. – 2001. – Vol. 8, № 5. – P. 884–890.
 7. Применение методов генотипирования ВИЧ и филогенетического анализа при проведении эпидемиологического расследования случаев ВИЧ-инфекции / А.Э. Лопатухин, Н.Н. Ладная, Л.Д. Кириллова [и др.] // *Врач*. – 2015. – №2. – С. 2–5.
 8. Филогенетический анализ в эпидемиологических расследованиях случаев ВИЧ-инфекции / Т.П. Сандырева, Н.А. Герасимова, А.Э. Лопатухин [и др.] // *Эпидемиология и инфекционные болезни*. – 2014. – №1. – С. 17–21.
 9. Лаповок, И.А. Молекулярно-генетические методы анализа в расследовании нозокомиальных вспышек ВИЧ-инфекции / И.А. Лаповок, А.Э. Лопатухин, Д.Е. Киреев // *Инфекционные болезни*. – 2020. – Т. 18. – № 1. – С. 53–59.
 10. Методические рекомендации 3.1.0366-25 «Использование генотипирования и филогенетического анализа при проведении эпидемиологического расследования случаев ВИЧ-инфекции и вирусного гепатита С». – М.: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 2025. Разработаны ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора (Н.Н. Ладная, А.Э. Лопатухин, Д.Е. Киреев, В.В. Покровский) и др. Утверждены главным государственным санитарным врачом РФ 19.02.2025.
 11. HIV molecular cluster detection and response. 2018. URL: <https://stacks.cdc.gov/view/cdc/60907>.
 12. Wertheim J.O., Kosakovsky Pond S.L., Forgiione L.A., et al. Social and Genetic Networks of HIV-1 Transmission in New York City. *PLoS Pathog*. 2017;13(1):e1006000.
 13. Alizon, S. Within-host and between-host evolutionary rates across the HIV-1 genome / S. Alizon, C. Fraser // *Retrovirology*. – 2013. – Vol. 10. – P. 49.
 14. Novitsky V, Wang R, Rossenkhon R, Moyo S, Essex M. Intra-host evolutionary rates in HIV-1C env and gag during primary infection. *Infect Genet Evol*. 2013;19:361–368.
 15. Abecasis A.B., Vandamme A.M., Lemey P. Quantifying differences in the tempo of human immunodeficiency virus type 1 subtype evolution. *J Virol*. 2009;83(24):12917–12924.

Контакты авторов:

Киреев Дмитрий Евгеньевич
e-mail: dmitkireev@yandex.ru

Конфликт интересов: отсутствует

Получена (Received) 26.03.2026
Принята в печать (Accepted) 20.06.2026