

Aus dem Institut für Virologie  
der Universität zu Köln  
Direktor: Universitätsprofessor Dr. med. F. Klein

# **Etablierung einer standardisierten Methode zur Identifizierung des HIV-Subtyps A6 und dessen epidemiologische und Resistenz-Analyse in Südrussland**

Inaugural-Dissertation zur Erlangung der Doktorwürde  
der Medizinischen Fakultät  
der Universität zu Köln

vorgelegt von  
Madita Schlösser  
aus Oldenburg

promoviert am 13. September 2023

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Universität zu Köln  
2023

Dekan: Universitätsprofessor Dr. med. G. R. Fink

1. Gutachter: Universitätsprofessor Dr. med. F. Klein
2. Gutachter: Privatdozent Dr. med. C. J. Wyen

## Erklärung

Ich erkläre hiermit, dass ich die vorliegende Dissertationsschrift ohne unzulässige Hilfe Dritter und ohne Benutzung anderer als der angegebenen Hilfsmittel angefertigt habe; die aus fremden Quellen direkt oder indirekt übernommenen Gedanken sind als solche kenntlich gemacht.

Bei der Auswahl und Auswertung des Materials sowie bei der Herstellung des Manuskriptes habe ich Unterstützungsleistungen von folgenden Personen erhalten.

Frau PD Dr. rer. nat Saleta Sierra-Aragon

Herr Dr. rer. nat. Rolf Kaiser

Weitere Personen waren an der Erstellung der vorliegenden Arbeit nicht beteiligt. Insbesondere habe ich nicht die Hilfe einer Promotionsberaterin/eines Promotionsberaters in Anspruch genommen. Dritte haben von mir weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen für Arbeiten erhalten, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertationsschrift stehen.

Die Dissertationsschrift wurde von mir bisher weder im Inland noch im Ausland in gleicher oder ähnlicher Form einer anderen Prüfungsbehörde vorgelegt.

Die in dieser Arbeit genutzten Daten wurden vom Institut für Virologie im Auftrag der russischen Kooperationspartner erhoben und mir dann zur weiteren Auswertung zur Verfügung gestellt.

Die Resistenzanalyse wurde unter Zuhilfenahme des Interpretationssystems geno2pheno durchgeführt.

Für die Erstellung der Consensus-Sequenz wurden zusätzlich Sequenzen aus der Los Alamos Datenbank verwendet.

Die Sammlung der Proben sowie der klinischen Daten erfolgte durch die Kooperationspartner in Russland vor Ort, hauptsächlich durch Prof. Vladimir Kartashev und Dr. Andrey Shemshura.

## Erklärung zur guten wissenschaftlichen Praxis

Ich erkläre hiermit, dass ich die Ordnung zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis und zum Umgang mit wissenschaftlichem Fehlverhalten (Amtliche Mitteilung der Universität zu Köln AM 132/2020) der Universität zu Köln gelesen habe und verpflichte mich hiermit, die dort genannten Vorgaben bei allen wissenschaftlichen Tätigkeiten zu beachten und umzusetzen.

Köln, den 21.11.2022

*Madita Schlösser*

## Danksagung

Ich danke dem gesamten Team des Instituts für Virologie für die Unterstützung während meiner gesamten Zeit im Institut und beim Verfassen dieser Dissertation. Ganz besonders möchte ich dem aktuellen Direktor des Instituts, Universitätsprofessor Dr. med. Florian Klein, und seinem Vorgänger, Prof. Dr. Dr. h.c. Herbert Pfister danken für die Möglichkeit der Realisation dieses Projektes und der guten Betreuung.

Der AG Kaiser danke ich für die herzliche Arbeitsatmosphäre, insbesondere Rolf Kaiser, der mir immer mit Rat und Tat und neuen Ideen zur Seite stand.

Danke an Eva Heger und Elena Knops dafür, dass ich euch jederzeit mit Fragen löchern durfte. Ein weiterer Dank geht an die Kollegen nach Russland, vor allem aber an Vladimir Kartashev für die Bereitstellung der Daten, ohne die meine Dissertation nicht möglich gewesen wäre und auch für die herzliche Betreuung während meines Besuches in Russland.

Danke auch an Katharina Hutt und Lisa Hüsgen für die besten Mittagspausen der Welt auf dem Balkon des Instituts.

Ein besonderer Dank geht an Saleta Sierra-Aragon. Von der ersten Idee über die anfänglich schwierige Organisation des Projektes, der anschließenden Auswertung und der Schreibphase standest du immer an meiner Seite, hattest für alle Fragen ein offenes Ohr und hast mich beim Lösen der aufkommenden Probleme unterstützt. Danke für die stets lustigen und motivierenden Gespräche und fürs Mut machen, nie aufzugeben.

Zuletzt möchte ich meinen Eltern und meiner Schwester danken für die zahlreichen unterstützenden Worte und Telefonate, nicht nur während dieser Arbeit, sondern auch während meines gesamten Studiums. Ohne eure Unterstützung wäre dieser Weg um einiges schwieriger gewesen. Danke, dass ich immer auf euch zählen kann.

# Inhaltsverzeichnis

<b>ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS</b>	<b>7</b>
<b>1. ZUSAMMENFASSUNG</b>	<b>9</b>
<b>2. EINLEITUNG</b>	<b>10</b>
2.1 HIV-Epidemiologie	10
2.1.1. HIV in der Welt	10
2.1.2. HIV in Russland	12
2.2 Klassifikation und Geschichte des HI-Virus	14
2.3 Aufbau und Struktur des HI-Virus	15
2.4 Replikationszyklus	16
2.5 Klinischer Ablauf der Erkrankung	18
2.6 Angriffspunkte und Wirkstoffe der antiretroviralen Therapie	21
2.6.1. NRTI/NNRTI	21
2.6.2. INI	25
2.6.3. PI	26
2.6.4. EI	28
2.6.5. Kombinationstherapie	30
2.7 ART in West- und Zentraleuropa, Nordamerika und Russland	33
2.8 Resistenz gegenüber antiretroviralen Medikamenten	35
2.8.1. NRTI-RAMs	36
2.8.2. NNRTI-RAMs	37
2.8.3. PI-RAMs	38
2.8.4. INI-RAMs	38
2.8.5. Resistenz gegenüber Maraviroc	39
2.8.6. Resistenz gegenüber Fusionsinhibitoren	40
2.9 Resistenzmonitoring bei Beginn und Versagen der Therapie	40
<b>3. Publikation</b>	<b>42</b>

<b>3.1</b>	<b>Hauptartikel</b>	<b>43</b>
<b>3.2</b>	<b>Zusatzmaterial</b>	<b>57</b>
<b>4.</b>	<b>DISKUSSION</b>	<b>64</b>
<b>5.</b>	<b>LITERATURVERZEICHNIS</b>	<b>72</b>
<b>6.</b>	<b>ANHANG</b>	<b>82</b>
<b>6.1</b>	<b>Abbildungsverzeichnis</b>	<b>82</b>
<b>6.2</b>	<b>Tabellenverzeichnis</b>	<b>82</b>

## Abkürzungsverzeichnis

AIDS	acquired immunodeficiency syndrome
ART	antiretrovirale Therapie
bp	Basenpaar
CRF	circulating recombinant form
CD4	cluster of differentiation 4, CD4 <sup>+</sup> -T-Zellen
CMV	Cytomegalie-Virus
DNA	deoxyribonucleic acid (Desoxyribonukleinsäure)
dNTP	Desoxyribonukleosidtriphosphate
EI	Entry-Inhibitor
GT	Genotyp
Gp41	Glykoprotein 41
Gp120	Glykoprotein 120
Gp160	Glykoprotein 160
HIV	Humanes-Immundefizienz-Virus
IN	Integrase
INI	Integrase-Inhibitor
LTR	long terminal repeats
MSM	men who have sex with men
NGS	next generation sequencing
NRTI	nukleosidische/nukleotidische Reverse Transkriptase Inhibitor
NNRTI	nicht nukleosidische Reverse Transkriptase Inhibitor
kb	Kilobasen
PBMC	peripheral blood mononuclear cell
PCP	Pneumocystis Pneumonie
PCR	polymerase chain reaction (Polymerase-Kettenreaktion)
PI	Protease-Inhibitor
PRRT	Protease/Reverse Transkriptase
PWID	People who inject drugs
RAM	Resistenz-assozierte Mutation
Rev	Regulator Expression of Virion Protein
RNA	ribonucleic acid (Ribonukleinsäure)
RT	Reverse Transkriptase
RT-PCR	one step reverse transcription followed by PCR
SIV	Simian Immunodeficiency Virus
TAM	Thymidin-Analoga Mutation
Taq	Thermus aquaticus

Tat	trans-Activator Protein
TDR	transmission of drug resistance
URF	unique recombinant form
Vif	Viral Infectivity Factor
Vpr	Lentivirus Protein R
Vpu	Virus Protein U
Vpx	Virus Protein X
V3	third variable loop des Glykoproteins gp120

#### IUPAC Nukleotid-Code

A: Adenin	U: Uracil	S: G oder C	D: A, G oder T
C: Cytosin	K: G oder T	W: A oder T	H: A, C oder T
G: Guanin	M: A oder C	Y: C oder T	V: A, C oder T
T: Thymin	R: A oder G	B: C, G oder T	N: A, C, G oder T

#### IUPAC Aminosäuren-Code

Alanin	Ala	A	Leucin	Leu	L
Asparagin	Asn	N	Lysin	Lys	K
Asparaginsäure	Asp	D	Methionin	Met	M
Arginin	Arg	R	Phenylalanin	Phe	F
Cystein	Cys	C	Prolin	Pro	P
Glutamin	Gln	Q	Serin	Ser	S
Glutaminsäure	Glu	E	Threonin	Thr	T
Glycin	Gly	G	Tryptophan	Trp	W
Histidin	His	H	Tyrosin	Tyr	Y
Isoleucin	Ile	I	Valin	Val	V

## 1. Zusammenfassung

Die meisten Studien zu HIV und HIV-Resistenz wurden bisher überwiegend in Moskau und St. Petersburg durchgeführt. Für Südrussland gab es bis jetzt nur wenige Daten. Anhand meiner Arbeit lässt sich nun ein klares Bild zu Epidemiologie und zirkulierenden Resistenzen in Südrussland zeichnen. Die Transmissionswege in dieser Region sind ähnlich wie für den Rest Russlands und andere ehemals sowjetische Länder.

A6 ist in Südrussland als häufigster Subtyp beschrieben wie auch für den Rest Russlands und andere ehemals sowjetische Länder. Die zurzeit verfügbaren bioinformatischen Interpretationssysteme sind aktuell noch nicht in der Lage sicher zwischen dem Subtyp A1 und A6 zu unterscheiden. Mit meiner Arbeit ist es gelungen, einen Konsensus zumindest für einen Teil des Genoms, die Region pol, zu erstellen. Um in Zukunft sicher zwischen den beiden Subtypen unterscheiden zu können, arbeitet unsere Forschungsgruppe an einer Konsensus-Sequenz für das gesamte Genom des Subtyps A6 und an der Implementation dieser Konsensus-Sequenz in die bioinformatischen Interpretationssysteme.

Es gibt aber eine Besonderheit in Südrussland, die im Rest Russlands so nicht beobachtet werden kann: Die massive nosokomiale Transmission von Subtyp G in den späten achtziger Jahren. Ich konnte aber bei meinen Untersuchungen keine Infektionen mit Subtyp G außerhalb dieses Kollektivs feststellen, Subtyp G hat sich also nicht weiter in der Bevölkerung ausgebreitet und bleibt beschränkt auf die Gruppe der damals infizierten Kinder.

Resistenzen konnten sowohl bei Therapie-Erfahrenen als auch für Therapie-Naive festgestellt werden, die beobachteten Anteile ähneln denen, die in Italien und Deutschland beschrieben werden. Diese Daten zur Prävalenz unterstreichen die Notwendigkeit einer Implementation einer einheitlichen Routine zur Durchführung von Resistenztestung und der entsprechenden Therapieanpassung.

Zusätzlich korreliert die Prävalenz bestimmter RAMs signifikant mit bestimmten Subtypen. Meine Studie konnte zum Beispiel für den Subtyp G ein signifikant häufigeres Auftreten der Mutationen I54AV, L90M, M41L, D67N und T215F und für den Subtyp A6 ein signifikant häufigeres Auftreten der Mutationen A62V und G190S zeigen. Die Definition einer Konsensus-Sequenz für A6 wird die Ermittlung der Auswirkung dieser zwei RAMs auf das Resistenzverhalten der Viren erlauben.

## **2. Einleitung**

### **2.1 HIV-Epidemiologie**

Weltweit leben Ende 2021 ca. 38,4 Millionen Menschen mit dem Humanen Immundefizienz Virus (HIV), allein im Jahr 2021 wurden 1,5 Millionen Menschen mit HIV neu infiziert. Die Zahl der durch AIDS verursachten Todesfälle betrug 2021 560.000. Derzeit erhalten 75,0% der Erwachsenen, die an HIV erkrankt sind, und 52,0% der mit HIV infizierten Kinder eine ART. Gleichzeitig wird aber auch vermutet, dass nur 84,0% der mit HIV infizierten Menschen auch tatsächlich wissen, dass sie infiziert sind. Durch Prävention, Aufklärung und Therapieprogramme konnte die Rate der Neuinfektionen in den letzten Jahren gesenkt werden. Allein im Zeitraum von 2010 bis 2020 ist die Zahl der Neuinfektionen weltweit um 31,0% gesunken. HIV bleibt aber dennoch ein globales Gesundheitsproblem (1-3). Ziel von UNAIDS ist es, die weitere Ausbreitung von HIV in der Welt und insbesondere in Risikogebieten weiter einzudämmen. Hierfür wurden 2014 die Fast-Track-Strategy veröffentlicht. Da die HIV-Epidemie regionale Unterschiede aufweist, ist es wichtig die jeweiligen regionalen Besonderheiten im Hinblick auf Risikogruppen, Subtypenverteilung, Transmissionswege und Resistenzprofile zu kennen und so entsprechende regionale Strategien zu entwickeln. (4).

#### **2.1.1. HIV in der Welt**

Nach Informationen der WHO (5-7) lebten in Amerika und West- und Zentraleuropa 2021 Schätzungen zufolge 2,3 Millionen Menschen mit HIV, in West- und Zentralafrika hingegen 5 Millionen. Am meisten HIV-Infizierte leben jedoch in Ost- und Südafrika, geschätzt rund 20,6 Millionen. In Asien und der Pazifik-Region sind es ca. 6,0 Millionen Infizierte, in Lateinamerika 2,2 Millionen. Die Sterberate durch AIDS oder HIV-assoziierte Malignome ist dementsprechend in den Regionen mit vielen HIV-Infizierten hoch. So waren es 2021 in Ost- und Südafrika rund 310.000, in West- und Zentralafrika ca. 140.000, in Asien 150.000 und in Europa und Nordamerika nur rund 13.000 (1; 2). Das hängt meistens damit zusammen, wie viele HIV-Infizierte eine antiretrovirale Therapie erhalten. In Europa und Nordamerika wurden 2021 knapp 86,0% antiretroviral therapiert, in Asien und der Pazifik-Region stieg die Zahl auf 66,0% im Jahr 2021, in West- und Zentralafrika auf 82,0% und auch in Ost- und Südafrika auch auf 85,0% (1; 2). Durch die steigende Anzahl der HIV-Infizierten unter Therapie konnte auch die Rate der Neuinfektionen günstig beeinflusst werden. Den größten Erfolg konnte Ost- und Südafrika mit einem Rückgang der Neuinfektionen um 44,0% zwischen 2010 und 2021 verzeichnen. In den übrigen Regionen zeigte sich ebenfalls ein geringerer Rückgang der Neuinfektionen. Der größte Anstieg der Neuinfektionen zeigte sich zwischen 2010 und 2021 in Osteuropa und Zentralasien um 48,0% (1; 2).

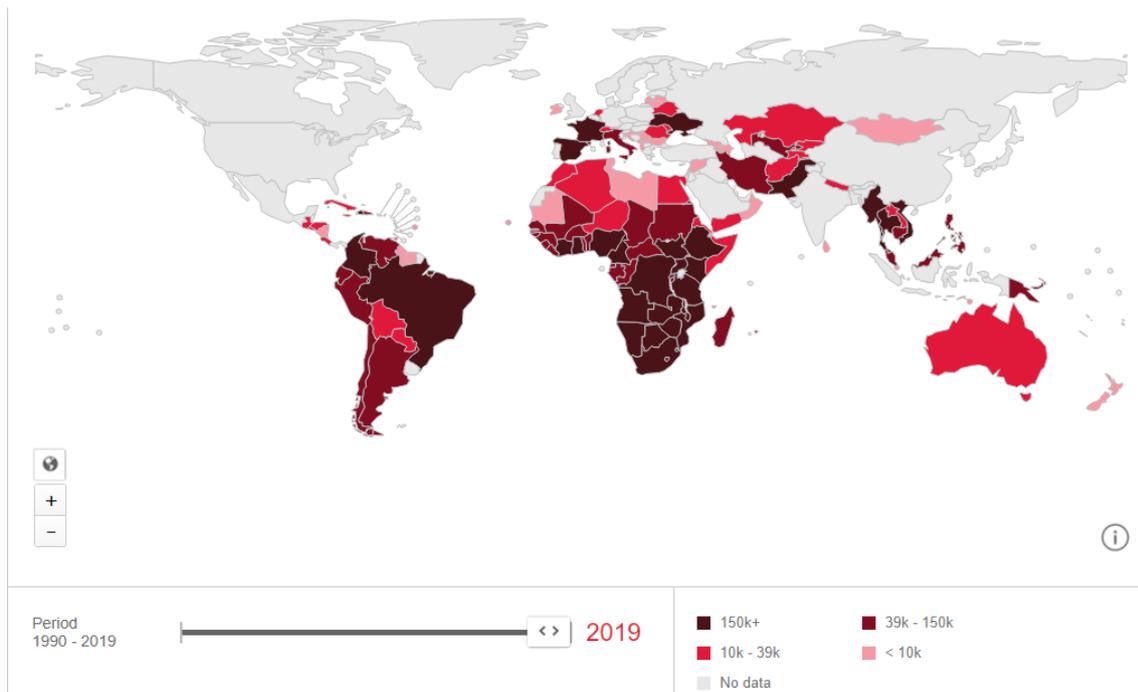


Abb.1: HIV-Prävalenz 1990-2019 nach Region (UNAIDS)

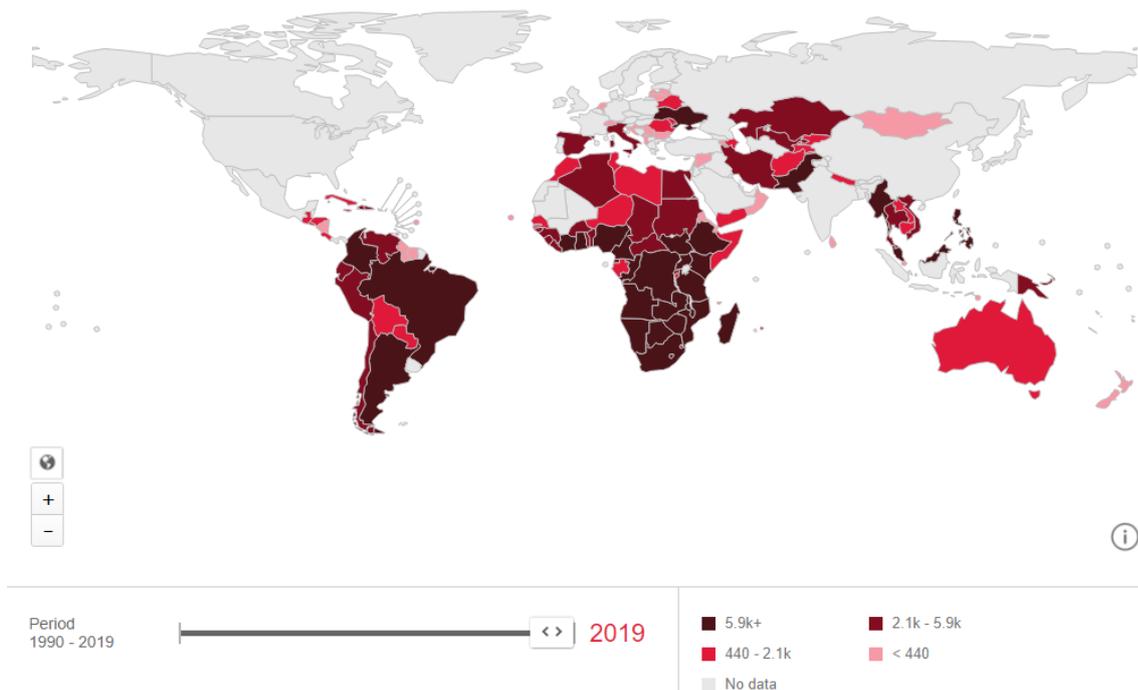


Abb. 2: HIV-Neuinfektionen 1990-2019 (UNAIDS)

Weltweit ist Subtyp C am häufigsten, gefolgt von Subtyp A und B und von CRF02\_AG. Regional gesehen gibt es aber Unterschiede, was die Verteilung und Ausbreitung der verschiedenen Subtypen und CRFs von HIV angeht. So ist Subtyp C am häufigsten in Südafrika und Indien zu finden. In Nordamerika, West- und Zentraleuropa, Lateinamerika, Karibik und Australien ist Subtyp B am häufigsten, Subtyp A dagegen in Ostafrika, Osteuropa und Zentralasien. In Süd- und Südostasien ist die Variante CRF01\_AE vorherrschend.

Weltweit gesehen ist CRF02\_AG die häufigste Variante mit ca. 8,0% und ist am häufigsten in Westafrika zu finden. Daneben ist dort zudem auch der Subtyp G dominierend, der unter anderem auch in Zentralafrika zu finden ist. In Zentralafrika zeigt sich eine hohe Diversität, es finden sich dort alle Subtypen und verschiedene CRFs und auch URFs (8).

### **2.1.2. HIV in Russland**

Gerade in Russland stellt HIV-1 jedoch ein sehr großes Problem dar, zur Prävalenz von HIV-2 existieren keine Daten. Im Gegensatz zum globalen Trend ist in Osteuropa und Zentralasien die Rate der jährlichen Neuinfektionen 2021 im Vergleich mit 2010 um 48,0% gestiegen, allein 2021 wurden 160000 Neuinfektionen gezählt (1). 51,0% dieser Neuinfektionen waren 2014 durch Übertragungen unter Drogenkonsumenten (people who inject drugs, PWID) verursacht, 2021 sank die Zahl auf 39,0%. Nur 63,0% der HIV-Infizierten in Osteuropa und Zentralasien sind sich ihres Status bewusst und lediglich 51,0% der HIV-infizierten Menschen aus Osteuropa und Zentralasien waren Ende 2021 antiretroviral behandelt (1; 2). Schätzungen aus dem Jahre 2013 nach leben 2/3 der HIV-Infizierten aus dieser Region in Russland (9). Bis Mitte des Jahres 2017 wurden über 1,16 Millionen HIV-Infektionen in Russland gemeldet, was 75,0% der Neuinfektionen in Osteuropa und Zentralasien ausmacht. In Russland haben 29,0% der HIV-Infizierten keine nachweisbare Viruslast (<50 copies/ml) mehr. Da aber nur 38,0% der HIV-Infizierten tatsächlich behandelt werden, wird die weitere Ausbreitung von HIV so nur geringfügig beeinflusst (6; 10; 11). In den aktuelleren Reporten der UNAIDS gibt es derzeit keine weiteren Angaben zur HIV-Epidemie in Russland (1; 2).

Die ersten HIV-Infektionen in Russland, damals noch zur UdSSR gehörend, wurden Ende der 1980er Jahre bekannt (9). Zu dieser Zeit gab es nur wenige HIV-1 Infektionen, die zumeist durch sexuellen Kontakt übertragen wurden. Die vorherrschenden Viren wiesen eine hohe genetische Variabilität auf (12). Im Jahre 1995 wurde ein drastischer Anstieg der HIV-Infektionen unter den PWID im Süden der Ukraine verzeichnet (13; 14). In der ukrainischen Stadt Odessa wurde fast ausschließlich der Subtyp A1 nachgewiesen, während im ukrainischen Nikolaev der Subtyp B vorherrschte. Von dort aus hat sich der Subtyp A1, auch IDU-A oder A-FSU genannt, über ganz Russland und weitere Länder der ehemaligen Sowjetunion ausgebreitet und ist auch heute noch der häufigste Subtyp in Russland. Die Ausbreitung des Subtyps IDU-B blieb regional beschränkt (9; 14-20). Es wird angenommen, dass IDU-B aber nicht gleichzusetzen ist mit dem Subtyp B, der in Europa und Nordamerika vorherrscht. Der „westliche“ Subtyp B findet sich fast nur bei MSM ins Russland (8; 9; 16; 18). Der Ursprung des russischen Subtyps A1 liegt in der Demokratischen Republik Kongo und ist wahrscheinlich ca. 10 Jahre vor dem großen Ausbruch unter den PWID in Odessa eingeführt und zunächst über heterosexuellen Kontakt verbreitet worden (21; 22). Mittlerweile wird die Variante IDU-A oder A-FSU nicht mehr als A1 klassifiziert, sondern stellt einen neuen Subtyp dar und wird als A6 bezeichnet (23; 24). In Publikationen, die nach der Änderung der

Klassifizierung veröffentlicht wurden, wird diese neue Klassifizierung leider nicht einheitlich verwendet. Häufig ist nur vom Subtyp A die Rede, ohne nähere Zuordnung zu A1 oder A6 (25), oder es wird weiterhin die Bezeichnung A-FSU verwendet (26).

Weitere weit verbreitete zirkulierende Varianten in Russland sind die Rekombinanten CRF02\_AG, CRF03\_AB und CRF01\_AE. CRF03\_AB wurde erstmals zwischen 1996 und 1997 in Kaliningrad unter PWIDs gefunden und IDU-A ist ein Ursprung dieser Rekombinante. Woher der Anteil des Subtyps B an der Rekombinante ursprünglich kommt, bleibt unklar. Die Ausbreitung von CRF03\_AB bleibt nicht auf Kaliningrad beschränkt und findet sich in ganz Russland und ehemals sowjetischen Ländern, wie zum Beispiel Usbekistan und Litauen, wenn auch teilweise nur vereinzelt (9; 25; 27-29). CRF02\_AG konnte 2002 erstmals in Usbekistan nachgewiesen werden (30). Kurze Zeit später erfolgte auch der Nachweis in Kasachstan (31). In Sibirien wurde diese Rekombinante 2006 erstmals gefunden und hat sich dort ausgebreitet. Durch weitere Rekombination haben sich weitere Rekombinanten gebildet. So wurde 2011 in Novosibirsk eine neue Rekombinante aus CRF02\_AG und A nachgewiesen. Diese Rekombinante wurde später CRF63\_02A1 genannt (32; 33). Von Zentralasien aus hat sich CRF02\_AG auch nach Russland ausgebreitet (9). CRF 63\_02A1 dominiert in Sibirien und kommt dort häufiger vor als A1 (34). CRF01\_AE wurde erstmalig 1996 in Russland nachgewiesen (35). Zunächst noch als Subtyp E bezeichnet, erkannte man später, dass Subtyp E eigentlich eine Rekombinante aus A und E darstellt, wobei bisher noch nie eine komplette reine Sequenz für Subtyp E gefunden werden konnte (36; 37). CRF01\_AE schien zuerst eine hohe Prävalenz in Russland zu zeigen, Ende der 2000er fand man jedoch heraus, dass dem eine Missinterpretation des Subtyps A-FSU zugrunde lag. Das Vorkommen von CRF01\_AE in Russland ist tatsächlich nur vereinzelt zu beobachten und mit sexuellen Kontakten nach Südostasien assoziiert (9).

Die HIV-1 Epidemie in Russland ist charakterisiert durch einen hohen Anteil an Infektionen, bei denen Drogenkonsum den Übertragungsweg darstellt. Die ersten Ausbrüche Mitte der neunziger Jahre waren fast ausschließlich, und zwar zu 99,0%, durch PWID verursacht (9). PWID ist mit einem Anteil von 51,0% der Neuinfektionen mit HIV im Jahr 2014 auch immer noch der häufigste Übertragungsweg in Osteuropa und Zentralasien, wobei auch die Übertragung durch hetero- oder homosexuellen Kontakt eine immer größere Rolle spielt. Der Anteil an heterosexueller Übertragung wurde 2014 auf 33,0% geschätzt (10; 25; 38). 2018 waren nur noch 41,0% der Neuinfektionen durch PWID verursacht und 36,0% heterosexuell (6). Aktuell sind nur noch 26% der Neuinfektionen durch PWID verursacht, zu allen anderen Übertragungswegen gibt es keine Angaben (1; 2). Die Übertragung von HIV-1 durch homosexuellen Kontakt spielt in Russland laut Statistiken nur eine untergeordnete Rolle. Ob das tatsächlich so ist oder eine Falschangabe des Übertragungsweges darstellt, ist nicht klar. Homosexualität unterliegt in Russland immer noch sehr vielen Vorurteilen und Stigma, im Juni

2013 wurde von der Regierung das sogenannte „Anti-gay-propaganda-law“ erlassen. Dadurch ist jede Bereitstellung von Informationen zur Homosexualität strafbar (39). 2014 hatte MSM als Transmissionsweg geschätzt nur einen Anteil von 6,0% an den Neuinfektionen mit HIV in Osteuropa und Zentralasien, 2021 stieg der Anteil auf 22,0%. In Europa und Nordamerika hingegen waren es 2021 64,0% und MSM stellt somit dort den häufigsten Transmissionsweg dar (1; 6; 38). Eine im Jahr 2016 durchgeführte Studie unter MSM in Moskau zeigte eine Prävalenz einer Infektion mit HIV von 15,6% in der Studiengruppe und nur 23,4% der Getesteten waren sich ihrer HIV-Infektion bewusst (40).

Einen besonderen Fall in der russischen Epidemiologie von HIV-1 stellt die klonale Infektion von mehr als 250 Kindern im Süden von Russland dar (Reviewed in (41; 42)). Zwischen 1988 und 1989 sind diese Kinder in mehreren Krankenhäusern durch den Gebrauch unsteriler Spritzen nosokomial infiziert worden. Indexpatient war das Kind einer HIV-infizierten Mutter, das im Krankenhaus von Elista behandelt wurde. Die Übertragung erfolgte durch intramuskuläre oder intravenöse Injektionen, die Spritzen waren dabei nicht oder nicht ausreichend sterilisiert worden. Die Infektion der Mutter erfolgte durch ihren Ehemann, der aller Wahrscheinlichkeit nach im Kongo durch wiederholte intramuskuläre Injektionen mit dem Subtyp G infiziert worden war, wobei eine Infektion durch sexuellen Kontakt nicht sicher ausgeschlossen wurde. Durch die Verlegung von einigen der im Krankenhaus mit diesem Subtyp infizierten Kinder auf andere Stationen und in umliegende Krankenhäuser, unter anderem auch in Rostow-am-Don, wurden weitere Kinder über insgesamt 11 Monate infiziert. Ein Teil der Kinder verstarb noch im Krankenhaus, an Pneumonie, Sepsis oder CMV-Infektionen. Die Kinder, die verstarben, hatten im Schnitt 22 Injektionen während des Krankenhausaufenthalts erhalten, infizierte Kinder 8 Injektionen und seronegative Kinder 4 Injektionen. Zum Teil sind auch einzelne Fälle beschrieben, in denen die Mütter der Kinder am wahrscheinlichsten durch das Stillen ihrer Kinder, ebenfalls mit HIV-1 Subtyp G infiziert wurden (41-43).

## **2.2 Klassifikation und Geschichte des HI-Virus**

HIV gehört zu den lymphotropen Lentiviren aus der Familie der Retroviridae. Man unterteilt die HI-Viren in HIV-1 und HIV-2. HIV-1 wird wiederum in vier verschiedene Gruppen unterteilt, M (Major), N (non-M-non-O), O (Outlier) und P (36; 44-46). Gruppe M ist verantwortlich für die Mehrzahl der HIV-Infektionen weltweit und wird in 14 Subtypen (A1, A2, A3, A4, A6, B, C, D, F1, F2, G, H, J, K), sogenannte circulating recombinant forms (CRF), und unique recombinant forms (URFs) unterteilt. Aktuell sind 96 CRFs bekannt (36). HIV-2-Infektionen sind weltweit deutlich seltener und daher sind bisher nur einige Formen analysiert worden. Insgesamt sind 8 Gruppen (A-H) und eine CRF bei HIV-2 bekannt (36; 44). Ursprünglich für die HIV-Epidemie ist die Übertragung des Simian Immunodeficiency Virus (SIV) von Affen auf den Menschen in

West- und Zentralafrika Anfang bis Mitte des 20. Jahrhunderts. Die verschiedenen Untergruppen von HIV-1 und HIV-2 sind das Ergebnis von jeweils einzelnen Übertragungen vom Affen auf den Menschen. Das sogenannte *acquired immunodeficiency syndrome*, kurz AIDS, wurde erstmals im Jahr 1981 bei einer Gruppe homosexueller Männer mit *Pneumocystis jirovecii* Pneumonie beschrieben (44; 45). Die erste Virusisolation gelang kurze Zeit später im Institut Pasteur in Paris (47). Durch weitere Virusisolationen konnte das Virus als Auslöser von AIDS bestätigt werden (48-50). Das Virus wurde Humanes-Immundefizienz-Virus genannt (51).

### 2.3 Aufbau und Struktur des HI-Virus

Das HI-Viruspartikel (Virion) besteht als behülltes Virus aus einem Core, dem Nukleokapsid, und einer Lipiddoppelmembran, die das Nukleokapsid umhüllt (siehe Abb. 3). In diese Lipiddoppelmembran eingelagert befinden sich die viralen Envelope-Glykoproteine gp120 (extrazellulär) und gp41 (transmembran). Das Nukleokapsid besteht aus dem Kapsidprotein und bildet die Hülle um das Core. Im Core befinden sich zwei einzelsträngige identische RNA-Stränge mit einer Länge von ca. 9,2 kb und virusspezifische Enzyme.

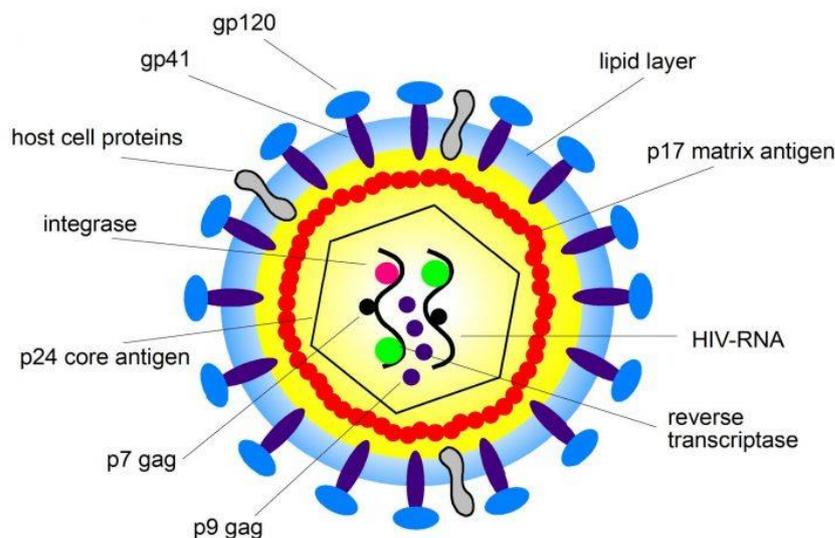


Abb. 3: Aufbau HIV-Virion

Die RNA kodiert für die viralen Gene *gag*, *pol* und *env*, sowie für einige weitere regulatorische Proteine (siehe Abb.4). Das Gen *gag* kodiert für die Strukturproteine, das Gen *pol* kodiert für die viralen Enzyme Protease (PR), reverse Transkriptase (RT) und Integrase (IN). Das *env* Gen kodiert für das Protein gp160, welches das Vorläuferprotein der beiden Glykoproteine gp120 und gp41 aus der Virushülle ist (45). Weitere Proteine, die zusätzlich auf dem viralen Genom kodiert sind, nennt man akzessorische Proteine. Dazu gehören unter anderem die Proteine Tat und Rev. Das Protein Tat (trans-Activator of Transcription) aktiviert die

Transkription, Rev (Regulator of Expression of Virion Proteins) moduliert den Transport der viralen RNA. Weitere akzessorische Proteine sind Nef (negative regulatory factor), Vpr (Lentivirus Protein R), Vif (Virus Infectivity Factor), Vpu (Virus Protein U) und Vpx (Virus Protein X). HIV-1 besitzt neben Vif, Vpr, Tat, Rev und Nef das Gen für das akzessorische Protein Vpu, HIV-2 dahingegen das Gen für Vpx (45; 52).

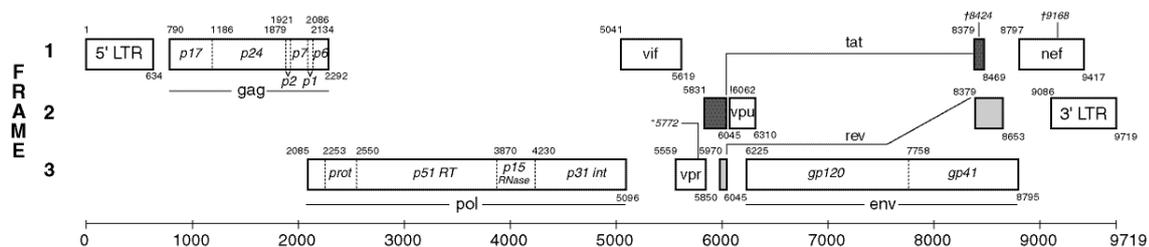


Abb. 4: HIV-1 Genom

## 2.4 Replikationszyklus

Bei einer Infektion mit HIV lagert sich das Virus zunächst an die Zelloberfläche der Zielzellen an. Diese Anlagerung erfolgt über eine Interaktion des viralen gp120 an den zellulären CD4-Rezeptor. Diese bewirkt, dass die V3-Schleife des gp120 freigelegt wird und dann mit einem zweiten zellulären Rezeptor interagieren kann. Dieser zweite zelluläre Rezeptor wird auch Korezeptor genannt und kann der Chemokinrezeptor CCR5 oder CXCR4 sein. HI-Viren haben unterschiedliche Neigung mit jeweils einem dieser Rezeptoren in Kontakt zu treten und werden dieser Neigung nach entweder als R5, für die Viren, die den CCR5-Rezeptor bevorzugen; oder, bei Bindungsfähigkeit an den Rezeptor CXCR4 exklusiv oder in Kombination mit CCR5, als X4 klassifiziert. Diese Bindungsneigung wird auch als Tropismus bezeichnet. Der nächste Schritt ist die Fusion der Virushülle über das gp41 mit der Zellmembran.

Nachdem das Nukleokapsid in das Zytoplasma der Zelle eingeschleust wurde, geschieht das sogenannte *uncoating* (45; 53) und die virale RNA wird freigesetzt (54) (Reviewed in (55)). Daraufhin beginnt die virale RT die virale einsträngige RNA in doppelsträngige DNA zu übersetzen. Diese sogenannte provirale DNA wird dann zum Nucleus transportiert. Dort wird die provirale DNA durch die Integrase in die DNA der Wirtszelle integriert. Ab diesem Punkt im Replikationszyklus gibt es zwei Möglichkeiten. Die provirale DNA kann zum einen im Genom der Wirtszelle latent bleiben, das heißt es werden keine viralen Proteine hergestellt. Die Mechanismen der Latenz sind derzeit noch unbekannt. Alternativ wird der virale Replikationszyklus fortgesetzt. So werden dann über Transkription und Translation der proviralen DNA durch entsprechende Enzyme der Wirtszelle virale Vorläuferproteine synthetisiert. Diese Proteine werden zusammen mit viraler RNA und zellulären Proteinen an die Zellmembran transportiert, die Viruspartikel werden assembliert und es erfolgt die Abknospung der Viruspartikel. Noch während dieses Transports wird das Vorläuferprotein

gp160 durch die zelluläre Protease in das Oberflächenprotein gp120 und das transmembrane Protein gp41 gespalten. Nach der Abknospung beginnt die Reifung des noch unreifen Virions durch die virale Protease. Die PR wird autolytisch von dem gag-pol Polyprotein gespalten und spaltet nun ihrerseits die viralen Vorläuferproteine gag und gag-pol in die Enzyme und viralen Strukturproteine. So kann sich unter anderem das Nukleokapsid bilden und aus dem unreifen Viruspartikel wird ein weiterer infektiöser HI-Virus. (45; 53)

Die akzessorischen Proteine spielen eine wichtige Rolle im Replikationszyklus des HI-Virus (45; 53). Tat stimuliert die Transkription von der proviralen DNA, wird aber auch nach extrazellulär sezerniert und beeinflusst so sowohl infizierte als auch uninfizierte Zellen. Rev bindet an die virale RNA, die von der Wirtszelle transkribiert wurde und stimuliert so den Transport der RNA aus dem Nucleus ins Cytosol der Wirtszelle, wo dann die Translation der viralen RNA zu den viralen Vorläuferproteine und auch zu den weiteren akzessorischen Proteine abläuft. Das Nef Protein reguliert die Zahl des Zellrezeptors CD4 und auch von MHC-I auf der Zelloberfläche herunter, sodass infizierte Zellen nicht mehr von zytotoxischen T-Lymphozyten als solche erkannt werden. Außerdem beeinflusst Nef die Signaltransduktionswege in den T-Zellen, was zum einen zur Aktivierung der T-Zellen führt, zum anderen kann auch die Apoptose durch Nef aktiviert werden. Das Vif Protein schützt die provirale DNA während der Transkription vor zellulären Cytidin-Deaminasen wie APOBEC3G, die unter anderem zur Hypermutation, Produktion defekter Proteine und letztendlich zu Degradation der proviralen DNA führt. Vpu induziert den Abbau von CD4-Rezeptoren und erhöht über verschiedene Wege die Freisetzung von Viruspartikeln. Vpr hat verschiedenste Funktionen, wie zum Beispiel Regulation der Zelldifferenzierung, Induktion von Apoptose, Aktivierung der Transkription von HIV und Arrest des Zellzyklus der Wirtszelle in der G2-Phase, in der die Expression viraler Gene am besten ist (45; 53).

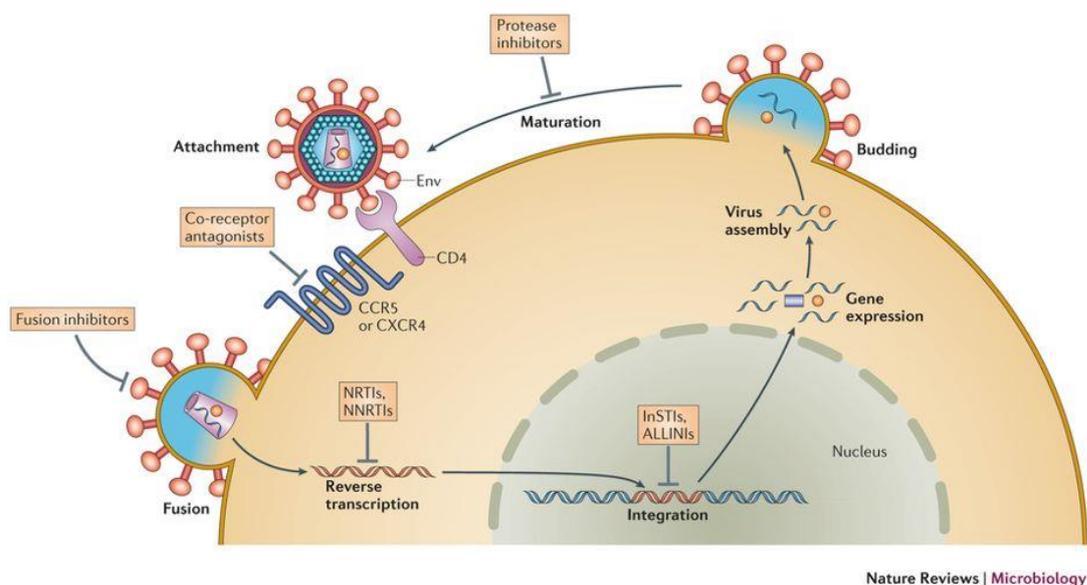


Abb. 5: Replikationszyklus des HIV

## 2.5 Klinischer Ablauf der Erkrankung

Die Primärinfektion mit dem HI-Virus verläuft meistens asymptomatisch, in einigen Fällen kommt es jedoch zu Grippe-ähnlichen Symptomen, wie Lymphadenopathie, Fieber und Myalgien. Ein makulopapulöses Exanthem kann ebenfalls auftreten. Diese Symptomkonstellation nennt man auch akutes antiretrovirales Syndrom, ist aber nicht spezifisch (56; 57). Die Virustiter im Blut sind zunächst sehr hoch und die Zahl der T-Helferzellen sinkt, bis es zu einer Antwort des Immunsystems kommt. (58) Es werden unter anderem spezifische Antikörper gebildet, die Viruslast sinkt und bleibt dann zunächst stabil. Gleichzeitig steigt die Zahl der CD4-Lymphozyten wieder, erreicht jedoch nie die Ausgangswerte (56; 57). Es dauert ca. 2 - 3 Wochen, bis es zu dieser Immunantwort kommt. In der darauffolgenden Phase der klinischen Latenz zeigen Infizierte keine klinischen Symptome, die Viruslast ist niedrig bis kaum nachweisbar (52; 59). Die Virusreplikation persistiert jedoch im lymphatischen Gewebe in dort ansässigen infizierten CD4-Zellen, Makrophagen und Monozyten, während die Replikationsrate in infizierten Zellen im Plasma niedrig oder nicht vorhanden ist (60; 61). Dabei kommt es zu einem hohen Umsatz von CD4-Lymphozyten und Virionen (62). Im weiteren Verlauf sinkt die Zahl der CD4-positiven Zellen jedoch stetig durch eine chronische generalisierte Aktivierung des Immunsystems. Nach Jahren, wenn keine Therapie erfolgt, kommt es dann zu ersten Symptomen einer Immundefizienz. Treten charakteristische opportunistische Infektionen auf, spricht man erst von AIDS (52; 59).

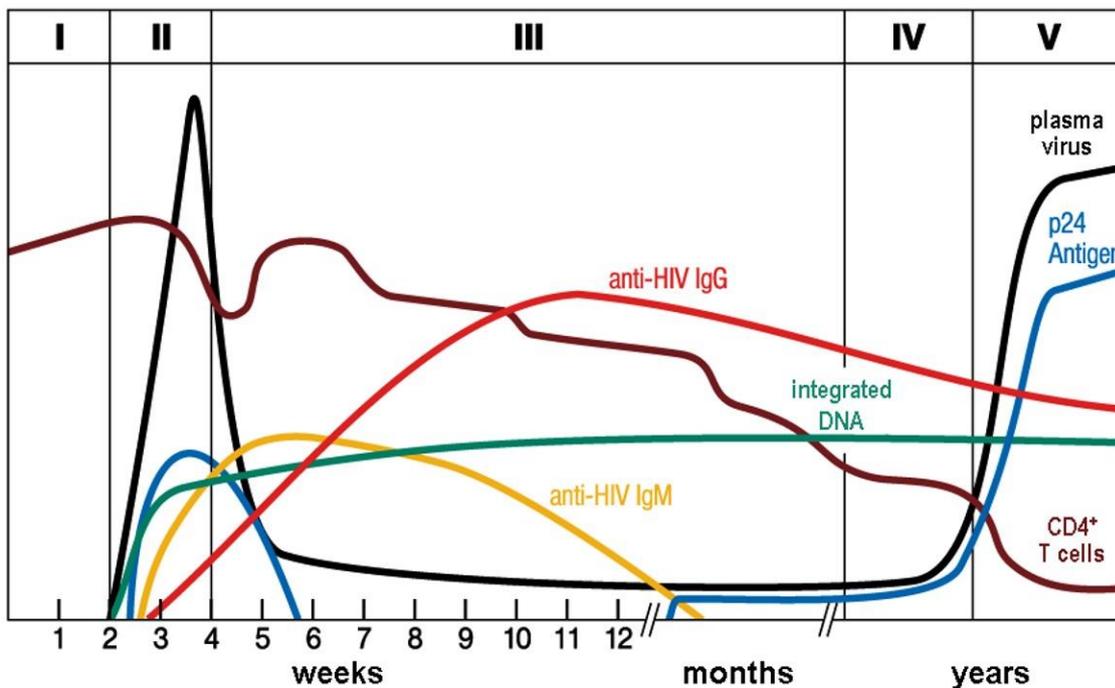


Abb.6: Natürlicher Verlauf einer HIV-Infektion

I: Inkubation, II: Akute Infektion, III: Latenzzeit, chronische Infektion, IV: AIDS

Zur Einteilung der HIV-Erkrankung hat das CDC (Center for Disease Control and Prevention, USA) eine Klassifizierung veröffentlicht (siehe Tab. 1 und 2) (63). Die Klassifizierung wurde 2008 und 2014 überarbeitet, im klinischen Alltag ist jedoch häufig noch die Klassifikation von 1993 gebräuchlich. Die CDC-Klassifizierung von 1993 bezieht sowohl laborchemische als auch klinische Parameter zur Klassifikation der HIV-Erkrankung ein. Zum Stadium A gehören die akute Primärinfektion und die Latenzphase. Das Stadium B wird klinisch durch nicht AIDS-definierende Erkrankungen, wie z.B. Durchfälle, Mundsoor, orale Haarleukoplakie oder Herpes Zoster, charakterisiert. Im Stadium C treten dann die sogenannten AIDS-definierenden Erkrankungen wie das Wasting-Syndrom, ausgelöst durch das HI-Virus selbst, und opportunistische Infektionen auf. Eine Heraufstufung innerhalb dieser Einteilung ist nicht möglich, auch wenn aktuell keine Erkrankungen der jeweiligen Kategorie bestehen oder die CD4-Zellen wieder ansteigen (57; 63).

Klinik/ CD4-Zellen	Asymptomatische oder akute HIV-Krankheit	Symptomatisch, aber nicht A oder C	AIDS-Erkrankung
> 500/ $\mu$ l	A1	B1	C1
200-499/ $\mu$ l	A2	B2	C2
<200/ $\mu$ l	A3	B3	C3

Tab. 1: CDC-Klassifikation 1993

### Kategorie A

- Asymptomatische HIV-Infektion
- Akute, symptomatische HIV-Infektion aktuell oder in der Vorgeschichte
- Persistierende, generalisierte Lymphadenopathie (LAS)

### Kategorie B

Krankheitssymptome oder Erkrankungen, die nicht in Kategorie C fallen, dennoch aber der HIV-Infektion grundsätzlich zuzuordnen sind oder auf eine Störung der zellulären Immunabwehr hinweisen.

- Bazilläre Angiomatose
- Oropharyngeale Candidose
- Vulvovaginale Candidose, die entweder chronisch (> 1 Monat) oder nur schlecht therapierbar ist
- Zervikale Dysplasien oder Carcinoma *in situ*
- Konstitutionelle Symptome wie Fieber >38,5°C oder eine >1 Monat bestehende Diarrhoe
- Orale Haarleukoplakie
- Herpes zoster bei Befall mehrerer Dermatome oder nach Rezidiven in einem Dermatome
- Idiopathische thrombozytopenische Purpura

- Listeriose
- Entzündungen des kleinen Beckens, insbesondere bei Komplikationen eines Tuben- oder Ovarialabszesses
- Periphere Neuropathie

### Kategorie C

#### AIDS-definierende Erkrankungen

- Candidose von Bronchien, Trachea oder Lungen
- Candidose, ösophageal
- CMV-Infektionen (außer Leber, Milz, Lymphknoten)
- CMV-Retinitis (mit Visusverlust)
- Enzephalopathie, HIV-bedingt
- Herpes simplex-Infektionen: chronische Ulzera (> 1 Monat bestehend; oder Bronchitis, Pneumonie, Ösophagitis)
- Histoplasmose, disseminiert oder extrapulmonal
- Isosporiasis, chronisch, intestinal, > 1 Monat bestehend
- Kaposi-Sarkom
- Kokzidioidomykose, disseminiert oder extrapulmonal
- Kryptokokkose, extrapulmonal
- Kryptosporidiose, chronisch, intestinal, > 1 Monat bestehend
- Lymphom, Burkitt
- Lymphom, immunoblastisches
- Lymphom, primär zerebral
- Mycobacterium avium complex oder M. kansasii, disseminiert oder extrapulmonal
- Mycobacterium, andere oder nicht identifizierte Spezies disseminiert oder extrapulmonal
- Pneumocystis-Pneumonie
- Pneumonien, bakteriell rezidivierend (> 2 innerhalb eines Jahres)
- Progressive multifokale Leukoenzephalopathie
- Salmonellen-Septikämie, rezidivierend
- Tuberkulose
- Toxoplasmose, zerebral
- Wasting-Syndrom
- Zervixkarzinom, invasiv

Tab. 2: Klinische Kategorien der CDC-Klassifikation 1993

Die Überarbeitung von 2014 (siehe Tab. 3) bezieht nur noch die Zahl der CD4-Lymphozyten ein, es erfolgt eine Unterteilung in die Stadien 0-3 und „unknown“ (unbekannt). Zum Stadium 3 wird neben der CD4-Zahl auch das Auftreten opportunistischer Infektionen, wie in der alten Klassifikation für C definiert, gezählt. Das Stadium 0 besteht, wenn unklare oder negative

Testergebnisse in einem Zeitraum von 180 Tagen vor oder nach einem sicher positiven Testergebnis auftritt (64).

Klassifikation HIV-Erkrankung anhand der CD4-Zellen (2014)						
Stadien	Alter der CD4-Lymphozyten-Bestimmung					
	< 1 Jahr		1-5 Jahre		> 6 Jahre	
	Zellen/ $\mu$ l	%	Zellen/ $\mu$ l	%	Zellen/ $\mu$ l	%
0	Negatives oder unklares Testergebnis innerhalb von 180 Tagen vor oder nach einem positiven Testergebnis					
1	$\geq 1500$	$\geq 34$	$\geq 1000$	$\geq 30$	$\geq 500$	$\geq 26$
2	750-1499	26-33	500-999	22-29	200-499	14-25
3*	< 750	< 26	< 500	< 22	< 200	< 14
unknown	Keine der oben genannten Kriterien treffen zu					
* Das Auftreten opportunistischer Erkrankungen wie unter Kategorie C der alten Klassifikation von 1993 kann unabhängig von der CD4-Zahl das Stadium 3 definieren.						

Tab. 3: CDC-Klassifikation 2014

## 2.6 Angriffspunkte und Wirkstoffe der antiretroviralen Therapie

Das Voranschreiten einer Erkrankung mit HIV kann durch eine Therapie mit antiretroviralen Medikamenten verlangsamt werden. In Industrieländern, wo diese Therapie weitläufig verfügbar ist und ein Großteil der Erkrankten therapiert wird, gilt HIV zwar als chronische Erkrankung, die in den meisten Fällen aber nicht mehr tödlich verläuft und auch das Auftreten opportunistischer Erkrankungen ist selten (11; 65).

Die einzelnen Schritte der viralen Replikation bilden die Grundlage für die antiretrovirale Therapie. Angriffspunkte der Medikamente sind die verschiedenen viralen Enzyme und auch die Prozesse der Anlagerung und der Fusion der Virushülle mit der Zellmembran der Zielzelle.

### 2.6.1. NRTI/NNRTI

Ein Angriffspunkt ist die reverse Transkription von viraler RNA zu proviraler DNA durch die RT. Die RT-Inhibitoren werden in zwei verschiedene Gruppen eingeteilt (siehe Tab. 4). Die sogenannten nukleosidischen/nukleotidischen Reverse-Transkriptase-Inhibitoren (NRTI) sind synthetische Analoga der natürlichen Nucleoside, jedoch ohne 3'-Hydroxylgruppe. Wird ein solches Analogon in den wachsenden proviralen DNA-Strang eingebaut, so kommt es zu einem Strangabbruch und die weitere Transkription dieses viralen RNA-Strangs kann nicht mehr stattfinden (53). Neben der viralen RT werden durch die NRTIs auch die DNA-Polymerasen in den menschlichen Zellen gehemmt. Die Affinität der NRTI ist aber gegenüber der RT höher als gegenüber den humanen DNA-Polymerasen, vor allem bei den neueren NRTIs. Trotzdem wird aber die mitochondriale DNA-Polymerase zum Teil gehemmt. So kommt

es zu den typischen Nebenwirkungen von NRTIs, vor allem bei NRTIs der älteren Generation wie Zidovudin oder Abacavir, wie zum Beispiel Polyneuropathie, Myopathie und auch Kardiomyopathie, Pankreatitis, Laktatazidose und Myelosuppression (53; 66).

Die nicht-nukleosidischen RT-Inhibitoren, kurz NNRTIs, sind direkte nonkompetitive Inhibitoren der Reversen Transkriptase. Sie sind kein Substrat der RT sondern binden an das aktive Zentrum der RT und hemmen so die Aktivität des Enzyms (62). Häufige Nebenwirkungen bei NNRTIs sind Hautausschlag, Lipodystrophie, Leberschädigung, Proteinurie, Hypertriglyzeridämie und Depressionen (53; 66; 67). Für die Therapie von HIV-2 sind NNRTIs nicht geeignet, da die dreidimensionale Struktur der RT von HIV-2 anders ist als von HIV-1 (68; 69).

Handelsname Wirkstoff	Abkürzung	Nebenwirkungen	Besonderheiten	Zulassung in EU
<b>Nukleosidische/Nukleotidische Reverse-Transkriptase-Inhibitoren NRTI</b>				
<b>Emtriva®</b> <b>Emtricitabin</b>	FTC	Kaum Nebenwirkungen	Wirkt auch gegen Hepatitis B	2003
<b>Epivir®</b> <i>Generikum</i> <b>Lamivudin</b>	3TC	Kaum Nebenwirkungen	Wirkt auch gegen Hepatitis B Als Zeffix® zur Behandlung der Hepatitis B zugelassen	1996
<b>Retrovir®</b> <i>Generikum</i> <b>Zidovudin</b>	AZT	Lipoatrophie, Blutarmut, Übelkeit, Fettleber, Muskelschmerzen und Rhabdomyolyse (Auflösung von Muskelfasern), Pigmentierung der Nägel, Fettstoffwechselstörung, Laktatazidose	In Industrieländern bei Erwachsenen zurückhaltend eingesetzt (ungünstiges Nebenwirkungsprofil). Als Infusionslösung v.a. bei der Geburt und für Säuglinge	1987
<b>Viread®</b> <i>Generikum</i> <b>Tenofovir</b>	TDF	Verminderte Knochendichte und erhöhtes Knochenbruchrisiko Verminderung der Nierenleistung	Wirkt auch gegen Hepatitis B und ist zur Behandlung der Hepatitis B zugelassen	2002

		(Filtrationsrate), Fanconi-Syndrom (Nierenschaden)		
<b>Ziagen®</b> <i>Generikum</i> <i>Abacavir</i>	ABC	Hypersensitivitätsreaktion (HSR) mit Fieber, Hautausschlag und Atembeschwerden, erhöhtes kardiovaskuläres Risiko (Erkrankung von Gefäßen/Herzkranzgefäßen) Hautausschlag, Übelkeit, Durchfall,	Vor Einsatz des Medikaments wird mit einem Test (HLA-B*5701) geprüft, ob eine genetische Veranlagung für eine HSR besteht, dann würde Ziagen® nicht verordnet	1999
<b>Nicht Nukleosidische Reverse-Transkriptase-Inhibitoren NNRTI</b>				
<b>Edurant®</b> <i>Rilpivirin</i>	RPV	Hautausschlag, Leberschädigung (Hepatitis), Senkung der Nierenfunktion (Filtrationsrate), Depression, Schlafstörungen, Kopfschmerz	Wirkt nicht gegen HIV-2. Zugelassen für antiretroviral nicht vorbehandelte Patienten mit HIV-1 Viruslast von ≤100.000 Kopien/ml. Muss mit kompletter Mahlzeit eingenommen werden, ein Snack reicht nicht.	2011
<b>Intelece®</b> <i>Etravirin</i>	ETV	Hautausschlag	Wirkt nicht gegen HIV-2. Nur bei vorbehandelten Patienten und nur in Kombination mit geboostetem Proteaseinhibitor zugelassen.	2008
<b>Sustiva®</b> (Deutschland) <b>Stocrin®</b> (Österreich und Schweiz) <i>Generikum</i>	EFV	Hautausschlag, Leberschädigung (Hepatitis), Depressionen, Schlafstörungen (lebhaftes Träumen),	Wirkt nicht bei HIV-2 und HIV-1 Gruppe 0 Kann falsch-positive Ergebnisse bei Cannabinoid-Schnelltest (Drogenscreening z.B. im	1998

<b>Efavirenz</b>		Kopfschmerzen, erhöhte Suizidneigung, Fettstoffwechselstörung, Gynäkomastie (Brustwachstum beim Mann), Blutarmut, Senkung des Vitamin-D-Spiegels im Blutplasma, Teratogenese (Fehlbildung des Embryo)	Straßenverkehr) hervorrufen – nicht aber im Bestätigungstest (Gaschromatographie).	
<b>Viramune® Generikum Nevirapin</b>	NVP	Hautausschlag und Leberschädigung (Hepatitis) v.a. im Rahmen einer Hypersensitivitätsreaktion. Tritt v.a. auf bei Männern mit > 400 Helferzellen/µl und Frauen mit >250/µl bei Therapiebeginn, wenn Viruslast >50 /ml	Wirkt nicht gegen HIV-2 u. HIV-1 Gruppe 0. In nicht retardierter Form: Einnahme 2x täglich Als Retardtablette: Einnahme 1x täglich Generika sind auch für die retardierte Tablette erhältlich	1996
<b>Pifeltro® Doravirin</b>	DOR	Schwindel, Kopfschmerzen, abnorme Träume, Müdigkeit, Übelkeit, Durchfall, Bauchschmerzen	Kann sowohl mit als auch ohne Nahrung eingenommen werden. Doravirin hat ein im Vgl. zu anderen NNRTI ein gutes Resistenzprofil und ist auch noch wirksam, wenn andere NNRTI nicht mehr wirken (gegen HIV-Varianten mit K103N, Y181C und G190A	2018

Tab. 4: Zugelassene NRTIs und NNRTIs

### 2.6.2. INI

Die Integrase-Inhibitoren (INIs) haben den Vorteil, dass es kein Enzym im menschlichen Körper mit der gleichen Wirkweise gibt, daher haben sie vergleichsweise geringe Nebenwirkungen. Häufige Nebenwirkungen sind gastrointestinale Beschwerden, erhöhte Kreatininkinase-Werte, Schlafstörungen und Kopfschmerzen (53; 66; 67). Durch Bindung der Inhibitoren an die Integrase wird der sogenannte Strangtransfer, das heißt die Bindung der proviralen DNA an die DNA der Wirtszelle gehemmt. Aufgrund des günstigen Nebenwirkungsprofils, der guten Wirksamkeit sind INIs ein Hauptbestandteil der antiretroviralen Kombinationstherapie (siehe Tab. 5) (53; 66; 67).

Handelsname	Abkürzung	Nebenwirkungen	Besonderheiten	Zulassung in EU
<b>Integrase-Inhibitoren INI</b>				
- Bictegravir	BTG	s. Bictarvy®	Nicht als Einzelsubstanz zugelassen, sondern nur mit TAF+FTC in Kombinationstablette Bictavy® Kaum Wechselwirkungen mit anderen Medikamenten oder Drogen	2018
Isentress® Raltegravir	RAL	Übelkeit, Muskelschmerzen, Schlafstörungen, Kopfschmerzen, Steven-Johnson-Syndrom <sup>6</sup> , Hypersensitivitätsreaktion (schwere Überempfindlichkeitsreaktion), Rhabdomyolyse (Auflösung von Muskelfasern)	Ungeboostete Integraseinhibitoren haben im Vergleich zu Proteaseinhibitoren und NNRTI nur wenig Wechselwirkungen mit anderen Medikamenten oder Drogen	2007
Tivicay® Dolutegravir	DTG	Übelkeit, Kopfschmerzen,		2014

		Schlafstörungen, Senkung der Nierenfunktion (Filtrationsrate), Hypersensitivitätsreaktio n (schwere Überempfindlichkeitsreak tion, in Schwangerschaft vermeiden		
<b>Vitekta® Elvitegravir</b>	EVG	Durchfall, Übelkeit, Senkung der Nierenfunktion (Filtrationsrate), Schlafstörungen, Kopfschmerz	In Deutschland als Einzelsubstanz von der Herstellerfirma nicht auf den Markt gebracht. Muss geboostet werden. In den Kombinationstabletten Stribild® und Genvoya® enthalten.	2013

Tab. 5: Zugelassenen INIs

### 2.6.3. PI

Die virale Protease besitzt ebenfalls kein ähnliches Korrelat in Säugetierzellen. Protease-Inhibitoren (PIs) sind meist Peptidomimetika, die an die PR binden und so die Spaltung der Vorläuferpolyproteine verhindern. (siehe Tab. 6) So können nur unreife Virionen entstehen, die nicht infektiös sind (53). Typische Nebenwirkungen von PIs sind Lipodystrophie, Dyslipidämie, Hyperglykämie, Leberschädigung, erhöhtes Blutungsrisiko bei Hämophilen, Nephrolithiasis sowie Hautausschlag (53; 66; 67). Eine Sonderstellung unter den Protease-Inhibitoren nimmt Ritonavir ein. Ritonavir hemmt neben der Protease auch das Enzym Cytochrom P450-3A4. Cytochrom P450-3A4 baut normalerweise eine Vielzahl an Medikamenten in der Leber ab, unter anderem eben auch PIs selbst. Daher wird Ritonavir in einer geringen Dosis von 100-200 mg täglich, je nach Kombination in der HIV-Therapie als Booster für die anderen PIs eingesetzt, hemmt deren Abbau und erhöht so deren Wirksamkeit (53; 66; 67). In der Therapie von HIV-2 sind nur die PIs Saquinavir, Lopinavir und Darunavir wirksam (70; 71).

Handelsname Wirkstoff	Abkürzung	Nebenwirkungen	Besonderheiten	Zulassung in EU
<b>Protease-Inhibitoren PI</b>				
<b>Aptivus® Tipranavir</b>	TPV	Fettstoffwechselstörungen, Leberschädigung (Hepatitis), Gehirnblutung	Nur in Kombination mit Ritonavir (Norvir®) als Booster.	2005
<b>Invirase® Oder Generikum Saquinavir</b>	SQV	Fettstoffwechselstörungen	Nur in Kombination mit Ritonavir (Norvir®) als Booster.	1995
<b>Kaletra® Aluvia™ (Afrika, Asien) Generikum Lopinavir+Ritonavir</b>	LPV	Fettstoffwechselstörungen, erhöhtes kardiovaskuläres Risiko (Erkrankung von Gefäßen/Herzkranzgefäßen) Senkung der Nierenfunktion (Filtrationsrate)	Enthält Ritonavir als Booster	2001
<b>Prezista® Darunavir</b>	DRV	Fettstoffwechselstörungen, Nierensteine, Hautausschlag	Nur in Kombination mit Ritonavir (Norvir®) oder Cobicistat (Tybost®) als Booster  Die feste Kombination mit Cobicistat (als Rezolsta®) wurde von der Herstellerfirma nicht auf den deutschen Markt gebracht	2007
<b>Reyataz® Atazanavir</b>	ATV	Fettstoffwechselstörungen, Erhöhung des Gallenfarbstoffs (Bilirubin) im Blut mit Gelbfärbung der weißen Augenhaut (Sklera), Gallengangsteine,	Normalerweise mit Booster einzusetzen. Unter best. Bedingungen (u.a.: Viruslast seit >6 Monaten unter der Nachweisgrenze) auch	2004

		Nierensteine, Senkung der Nierenfunktion (Filtrationsrate), Hautausschlag	ohne Booster einsetzbar	
<b>Telzir®</b> (Europa) <b>Lexiva™</b> (USA) <b>Fosamprenavir</b>	FPV	Fettstoffwechselstörungen, Durchfall, Übelkeit, Hautausschlag, erhöhtes kardiovaskuläres Risiko (Erkrankung von Gefäßen/Herzkranzgefäßen) Hautausschlag	Nur in Kombination mit Ritonavir als Booster. Einnahme der Tablette unabhängig von Mahlzeiten; Einnahme des Safts auf nüchternen Magen	2004
<b>Booster (Wirkungsverstärker für antiretrovirale Medikamente)</b>				
<b>Norvir®</b> <b>Ritonavir</b>	RTV	Senkung der Nierenfunktion (Filtrationsrate)	Blockt CYP 3A4 und weitere Leberenzyme. Proteaseinhibitor, zählt in der ART als niedrig dosierter Booster nicht als antiretrovirales Medikament. Wechselwirkungen mit anderen Medikamenten und Drogen	1997
<b>Tybest®</b> <b>Cobicistat</b>	COB	Senkung der Nierenfunktion (Filtrationsrate)	Blockt CYP 3A4 (Leberenzym). Booster für Darunavir, Atazanavir und Elvitegravir. Wechselwirkungen mit anderen Medikamenten und Drogen.	2013

Tab. 6: zugelassene PIs und Booster

#### 2.6.4. EI

Eine weitere Klasse antiretroviraler Substanzen bilden die sogenannten Fusions-Inhibitoren, die entweder die Bindung des Virions an zelluläre Rezeptoren verhindern oder die Fusion mit der Zellmembran verhindern. Derzeit gibt es nur einen einzigen auf dem Markt verfügbaren CCR5-Blocker, Maraviroc, auch Korezeptor-Antagonist genannt. Diese Substanz blockiert den

zellulären CCR5-Rezeptor, der als Korezeptor bei HIV wichtig für die Anlagerung des Virus an die Zielzelle ist (53). Allerdings wirkt Maraviroc nur bei R5 HI-Viren. Zu Beginn einer HIV-Infektion dominieren R5-trope Viren (72). Gegenüber HI-Viren, die bevorzugt den CXCR4-Rezeptor als Korezeptor nutzen, bleiben diese Medikamente wirkungslos. Allerdings entwickeln sich nur in ca. 50% der Patienten R4-trope Viren in der späten Phase der HIV-Infektion. Die Nebenwirkungen des Korezeptor-Antagonisten sind eher gering, da der CCR5-Rezeptor für den Menschen nicht überlebenswichtig ist. Es existieren einige Mutationen, die die Funktionalität des CCR5-Rezeptors herabsetzen. Ca. 1% der kaukasischen Bevölkerung Zentraleuropas sind homozygote Träger der delta 32-Mutation und weisen bei einer HIV-Infektion keine Symptome auf (73). Typische Nebenwirkung ist eine Leberschädigung (53; 66; 67). Seit 2019 gibt es auch einen monoklonalen Antikörper, der den CD4-Rezeptor blockiert (siehe Tab. 7).

Aktuell gibt es auch nur einen Fusionsinhibitor, Enfurvitide, auf dem Markt. Dieser bindet an das virale gp41 und verhindert so die Fusion der Viren mit der Zellmembran der Zielzelle (53; 67). Da es das einzige Peptid unter den antiretroviralen Medikamenten ist, muss es intramuskulär appliziert werden. Aufgrund dieser Darreichungsform und auch aufgrund oft starker lokaler Nebenwirkungen (siehe Tab. 7) wird dieses Medikament nicht routinemäßig, sondern als Therapieoption bei Patienten mit multi-resistenten HI-Viren eingesetzt, wenn andere Medikamentenklassen aufgrund der Resistenzen gar nicht oder nur stark eingeschränkt einsetzbar sind („salvage therapy“) (53).

Handelsname	Abkürzung	Nebenwirkungen	Besonderheiten	Zulassung in EU
<b>Entry-Inhibitoren</b>				
<b>Fuzeon® Enfurvitide</b>	ENV	Verhärtungen an der Einstichstelle mit erhöhter Empfindlichkeit (Hypersensitivität)	Fusionsinhibitor. Bekannt auch als T20. Medikament wird unter die Haut (subkutan) gespritzt. Selten eingesetzt.	2003
<b>Celsentri® Selzentry™ (USA) Maraviroc</b>	MVC	Hepatitis mit Erhöhung der Leberwerte, erhöhtes Risiko für Infektionen, Angina pectoris	Blockt CCR5-Korezeptor. Einsatz nur beim Nachweis von Viren, die über den CCR5- und nicht über den CXCR4-Rezeptor in Zelle	2007

			eintreten (Tropismus-Test).	
<b>Trogarzo® Ibalizumab</b>		Durchfall, Schwindel, Übelkeit, Hautausschlag, Immunrekonstruktionssyndrom	Monoklonaler Antikörper blockiert CD4-Rezeptor und verhindert so Eintritt des HI-Virus in Zelle, intravenöse Applikation, zugelassen für multiresistente Viren	2019

Tab. 7: zugelassene Entry-Inhibitoren

<p><b>Antiretrovirale Medikamente, die nicht (mehr) auf der Liste sind:</b></p> <p><b>Agenerase®</b> (Amprenavir) Proteaseinhibitor, wurde durch die Nachfolgesubstanz Telzir® (Fosamprenavir) abgelöst.</p> <p><b>Crixivan®</b> (Indinavir) erster Proteaseinhibitor auf dem Markt, heute aufgrund des Nebenwirkungsspektrums (Nierensteine, Lipodystrophie) kaum mehr eingesetzt.</p> <p><b>Fortovase®</b> (Saquinavir) Proteaseinhibitor, wurde als ungeboostete Formulierung von Saquinavir seit 2006 nicht mehr verwendet und durch Invirase® ersetzt.</p> <p><b>Hivid®</b> (Zalcitabin) NRTI, wurde aufgrund des Nebenwirkungsspektrums (Nervenschäden) nicht mehr eingesetzt und 2006 vom Markt genommen.</p> <p><b>Rescriptor®</b> (Delavirdin) NNRTI, ist nur in den USA zugelassen und wird in Deutschland extrem selten eingesetzt (muss dann importiert werden).</p> <p><b>Videx®</b> (Didanosin, DDI) NRTI, seit 1991 zugelassen, wird aufgrund des Nebenwirkungsspektrums (u.a. Nervenschäden, Pankreatitis) kaum mehr eingesetzt.</p> <p><b>Viracept®</b> (Nelfinavir) Proteaseinhibitor. Wurde Anfang 2013 vom Markt genommen (ungünstiges Nebenwirkungsprofil)</p>
---

Tab. 8: nicht mehr genutzte oder zugelassenen Medikamente

### 2.6.5. Kombinationstherapie

Die Therapie einer HIV-Infektion erfolgt immer als Kombinationstherapie, der sogenannten *antiretroviralen Therapie* (ART). Dabei werden Medikamente aus mindestens zwei verschiedenen Klassen gemeinsam eingesetzt. Einzige Ausnahme bildet die Therapie mit zwei PI, die offiziell zugelassen ist, aber nur selten eingesetzt wird. Eine Monotherapie ist nicht empfohlen, da sie keinen ausreichenden antiviralen Effekt hat und auch die Rate der

Resistenzentwicklung ist viel höher als bei einer Kombinationstherapie (53; 74). Einige dieser Kombinationen sind auch in einer einzigen Tablette verfügbar. Das hat den Vorteil, dass der Patient auch wirklich nur eine Tablette und nicht drei oder mehr täglich einnehmen muss, so wie es in den Anfangszeiten der antiretroviralen Therapie üblich war. (siehe Tab. 9)

Handelsname Wirkstoff	Abkürzung	Nebenwirkungen und Besonderheiten	Zulassung in EU
<b>Kombinationspräparate</b>			
<b>Delstrigo®</b> Doravirin+Tenofovir-D+Lamivudin	DOR TDF 3TC	Nebenwirkung: s. Einzelsubstanzen	2018
<b>Atripla®</b> oder <i>Generikum</i> <b>Padviram®</b> Tenofovir+Emtricitabin+Efavirenz	TDF FTC EFV	Nebenwirkungen: siehe Einzelsubstanzen. Antiretrovirale Therapie mit einmal täglich einer Tablette möglich	2008
<b>Bictarvy®</b> Bictegravir+Tenofovir-A+Emtricitabin	BTG TAF FTC	Nebenwirkungen: Durchfall, Übelkeit, Kopfschmerzen	2018
<b>Combivir®</b> oder <i>Generikum</i> Lamivudin+Zidovudin	3TC AZT	Nebenwirkungen: siehe Einzelsubstanzen.	1997
<b>Descovy®</b> Tenofovir+Emtricitabin	TAF FTC	Nebenwirkungen: siehe Einzelsubstanzen. TDF (Tenofoviridisoproxil) in Truvada® wurde durch TAF (Tenofoviralfenamid) ersetzt. Bei TAF kommt es zu einer geringeren Senkung der Nierenwerte (Kreatininclearance) als bei TDF. Im Gegensatz zu Truvada® ist das Präparat zwar in der Therapie, noch nicht jedoch in der PREP erforscht und zugelassen.	2016
<b>Dovato®</b> Dolutegravir+Lamivudin	DTG 3TC	Nebenwirkungen: siehe Einzelsubstanzen	2019

<b>Eviplera® (EU)</b> <b>Complera™ (USA)</b> <b>Tenofovir+Emtricitabin+Rilpivirin</b>	TDF FTC RPV	Nebenwirkungen: siehe Einzelsubstanzen. Zugelassen für Patienten mit HIV-1 Viruslast von ≤100.000 Kopien/ml. Mit kompletter Mahlzeit einnehmen	2011
<b>Genvoya®</b> <b>Tenofovir+Emtricitabin+Elvitegravir+Cobicistat</b>	TAF FTC EVG COB	Nebenwirkungen: siehe Einzelsubstanzen. Wie Stribild®, jedoch TDF durch TAF ersetzt.	2015
<b>Juluca®</b> <b>Rilpivirin+Dolutegravir</b>	DTG RPV	Nebenwirkungen: s. Einzelsubstanzen  Erste Kombination, bei der eine ART mit nur zwei Substanzen ohne die Klasse der NRTI möglich ist. Der Einsatz kommt infrage bei Patienten, deren Viruslast durch eine Vortherapie bereits stabil seit 6 Monaten unter der Nachweisgrenze liegt.	2018
<b>Odefsey®</b> <b>Tenofovir+Emtricitabin+Rilpivirin</b>	TAF FTC RPV	Nebenwirkungen: siehe Einzelsubstanzen. Wie Eviplera®, jedoch TDF durch TAF ersetzt	2016
<b>Kivexa®</b> <b>Epzicom™ (USA)</b> <i>Generikum</i> <b>Lamivudin+Abacavir</b>	3TC ABC	Nebenwirkungen: siehe Einzelsubstanzen	2004
<b>Stribild®</b> <b>Tenofovir+Emtricitabin+Elvitegravir+Cobicistat</b>	TDF FTC EVG COB	Nebenwirkungen: siehe Einzelsubstanzen. Antiretrovirale Therapie mit einmal täglich einer Tablette.	2013
<b>Symtuza®</b> <b>Darunavir+Cobicistat+Tenofovir+Emtricitabin</b>	DRV COB TAF FTC	Nebenwirkungen: siehe Einzelsubstanzen. Antiretrovirale Therapie mit einmal täglich einer Tablette.	2017
<b>Triumeq®</b> <b>Lamivudin+Abacavir+Dolutegravir</b>	3TC ABC DTG	Nebenwirkungen: siehe Einzelsubstanzen. Erste komplette Kombinationstablette, die nicht Tenofovir+Emtricitabin enthält	2014

<b>Trizivir®</b> <b>Lamivudin+Zidovudin+Abacavir</b>	3TC	Nebenwirkungen: siehe Einzelsubstanzen. Wird kaum noch eingesetzt, da als 3-fach Medikamentenkombination zu schwach wirksam.	2000
	AZT		
	ABC		
<b>Truvada®</b> <b>Generikum</b> <b>Tenofovir+Emtricitabin</b>	TDF	Nebenwirkungen: siehe Einzelsubstanzen. In den USA seit Juli 2012, in Europa seit Oktober 2016 auch als Prä-Expositions-Prophylaxe (PrEP) bei HIV-Negativen zugelassen. Mehrere Generika sind seit Juli 2017 auf dem EU-Markt. Zwei Generika (Hexal und ratiopharm) haben auch die Zulassung für die PrEP. Seit Ende September 2017 ist das Hexal-Generikum zur Anwendung als PrEP in verblisteter Form von der Firma Kölsche Blister für 50 Euro pro Monatspackung (28 Tabletten) erhältlich. Ab 1.12. ist das Generikum von ratiopharm für PrEP und Therapie für 69,-E/Monat erhältlich, seit Januar 2018 auch das Generikum von Aliud (nur für Therapie)	2005
	FTC		(Therapie)  2016 (PrEP)

Tab. 9: Kombinationspräparate

## 2.7 ART in West- und Zentraleuropa, Nordamerika und Russland

Das erste verfügbare antiretrovirale Medikament in Europa und den USA war im Jahre 1987 das NRTI Zidovudin (siehe Tab. 4). 1991 wurde Didanosin und 1992 Zalcitabin zugelassen, beides ebenfalls NRTIs, welche aktuell aber nicht mehr verfügbar sind (siehe Tab. 8). Im Jahre 1995 wird der erste PI, Saquinavir, in Europa zugelassen (siehe Tab. 6). Nachdem Studien gezeigt hatten, dass eine Kombinationstherapie effektiver als eine Monotherapie ist, wurde im Jahr 1996 die antiretrovirale Kombinationstherapie eingeführt, die aus mindestens drei Medikamenten, die aus zwei verschiedenen Wirkstoffklassen kommen, bestand. Mit Nevirapin wird 1996 das erste NNRTI auf den Markt gebracht (siehe Tab. 4). Kurz darauf werden weitere PIs, Indinavir und Ritonavir, zugelassen, von denen aktuell nur noch Ritonavir verfügbar ist (siehe Tabellen 6 und 8). In den darauffolgenden Jahren werden weitere PIs und NNRTIs zugelassen. 2007 ist mit dem INI Raltegravir eine neue Medikamentenklasse zur HIV-Therapie verfügbar (siehe Tab.5). Es werden in Europa und den USA immer weitere Kombinationen der verfügbaren Medikamente zur Therapie zugelassen (siehe Tab. 9). Mit Maraviroc wird 2007 auch der erste Korezeptor-Antagonist zugelassen (siehe Tab. 7). Einige Medikamente sind aufgrund ihres Nebenwirkungsprofils in Europa und den USA aktuell nicht mehr verfügbar (siehe Tab. 8).

Die Therapie in Russland bestand von Anfang der frühen 1990er bis in die frühen 2000er Jahre vornehmlich aus Mono- oder Bi-Therapie. Es gab keine strukturierten Therapieprogramme, erst 2002-2003 wurden solche in Russland und einigen ehemals sowjetischen Ländern etabliert (9).

Diagnostik und Behandlung von HIV-Infektionen wird in Russland von staatlichen AIDS-Zentren koordiniert. Da diese Zentren staatlich sind und dem Gesundheitsministerium unterstellt sind und nicht mit Universitäten und Forschungseinrichtungen assoziiert sind, werden die Daten, die in diesen AIDS-Zentren erhoben werden, nicht der Forschung zugänglich gemacht. Das betrifft sowohl epidemiologische als auch molekularbiologische Daten wie z.B. die Resistenztestung (9).

Auch heute noch ist Russland bezüglich der HIV-Medikamente größtenteils von internationalen Produzenten abhängig. Da es kaum innerstaatliche Produktion der Medikamente in Russland selbst gibt, müssen diese importiert werden. Immer wieder kommt es zu Engpässen in der Versorgung mit antiretroviralen Medikamenten, unter anderem kam es im Jahr 2010 über 6 Monate zu einer akuten Knappheit der HIV-Medikamente in Russland (9). Erst Mitte 2017 hat es sich die staatlich-russische Firma Rostec mit Kooperationspartnern zum Ziel gesetzt, eine innerstaatliche Produktion von HIV-Medikamenten zu etablieren (75). In Europa dahingegen sind alle zugelassenen Medikamente immer verfügbar und es gab bisher nie größere Lieferengpässe. Die Therapie richtet sich nach Guidelines und Empfehlungen wie zum Beispiel der WHO (59), der European AIDS Clinical Society (EACS) (76) oder nach nationalen Leitlinien wie beispielsweise der deutschen AIDS-Gesellschaft (DAIG) (77), ist aber sehr individualisiert. Die Zusammensetzung der Therapie richtet sich nach dem persönlichen Resistenzprofil, Komorbiditäten und Nebenwirkungsprofil. Lifestyle-Faktoren wie eine vereinfachte Einnahme durch single-tablet Regimen werden ebenfalls berücksichtigt (77).

Die Kriterien für den Beginn einer ART unterscheiden sich zwischen West- und Zentraleuropa und ehemals sowjetischen Ländern. In West- und Zentraleuropa wird jetzt der Beginn der antiretroviralen Therapie direkt nach der HIV-Diagnose empfohlen, unabhängig von den CD4-Werten (59; 76; 77). In Osteuropa und Russland dahingegen wird in 75% der asymptomatischen Patienten eine Therapie erst ab einer CD4-Zahl von  $<350$  Zellen/mm<sup>3</sup> begonnen, im Rest Europas ist das nur bei 25% der Fall (78). Dabei stellt auch die späte Diagnose einer HIV-Infektion in Russland ein großes Problem dar; 69% der Patienten, die 2016 eine antiretrovirale Therapie in Russland begannen, hatten bereits CD4-Zahlen unter 350 Zellen/mm<sup>3</sup> (11). Offizielle Leitlinien aus Russland indizieren erst seit 2016 den Beginn der ART unabhängig von der CD-4Zahl (79).

## 2.8 Resistenz gegenüber antiretroviralen Medikamenten

Als Resistenz bezeichnet man die Widerstandsfähigkeit eines HIV-Stammes gegen angewandte ART-Medikamente. Antivirale Medikamente binden, mit Ausnahme des Korezeptor-Antagonisten, spezifisch an virale Proteine und wirken inhibierend auf die virale Replikation. Entstehen Mutationen in einer Protein-kodierenden Region im viralen Genom, kann dies zu Änderungen der Aminosäure-Sequenz und damit zur Veränderung der dreidimensionalen Struktur des Proteins führen. Mutationen, die die Interaktion zwischen Medikament und Zielprotein negativ beeinflussen, werden Resistenz-assoziierte Mutationen (RAMs) genannt. Die Mutationsentwicklung und somit auch die Resistenzentwicklung wird durch eine hohe Mutationsrate und einen hohen Umsatz von HI-Virionen begünstigt (62; 80-82).

Die HIV-RT besitzt keine Korrekturlesefunktion um die Mutationen, die während der Transkription aufgetreten sind, zu korrigieren (83). Deswegen beträgt die Mutationsrate der HIV-RT zwischen  $10^{-3}$  und  $10^{-4}$  Mutationen pro kopiertes Basenpaar (84). Außerdem besitzen auch die zellulären RNA-Polymerasen, die für Transkription der viralen Proteine zuständig sind, keine Korrekturlesefunktion und weitere Mutationen akkumulieren (85). Da das HIV-Genom ca. 9,2 kb lang ist, weist jedes neu generierte Genom im Durchschnitt eine Mutation auf (86). Zusätzlich entstehen täglich ca. 10,3 Milliarden neue Virionen in unbehandelten Patienten (62; 81; 82). Aus all diesen Gründen schätzen mathematische Modelle, dass all mögliche Einzel- und Doppelmutationen bei einer solch hohen Replikationsrate täglich generiert werden (80). Daher ist es essenziell, dass bei einer Therapie schnell und auch langanhaltend eine ausreichende Suppression der Viruslast erlangt wird, um so die Mutations- und Resistenzentwicklung auf ein Minimum beschränken zu können.

Es existieren auch noch andere Quellen für Mutationen. Einige antiretrovirale Medikamente erhöhen die Mutationsrate, wie zum Beispiel Zidovudin und Lamivudin. Zusätzlich können auch bestimmte Mutationen, zum Beispiel in der RT, die Mutationsrate beeinflussen (87). Auch durch APOBEC3G, ein Protein aus der Familie der Cytidineaminasen, das eine große Rolle im Bereich der angeborenen Immunabwehr spielt, erhöht sich die genetische Diversität von HIV (88-91). APOBEC3G deaminiert Cytidin zu Uridin im neu entstehenden Minusstrang der viralen DNA und verursacht so eine G zu A -Hypermuation im Plusstrang der HIV-DNA (89; 92). Rekombination zwischen Viren unterschiedlichen Subtyps tragen ebenfalls zur hohen genetischen Variabilität des HI-Virus bei (93).

Resultierend aus der hohen Mutationsrate sind virale Populationen, auch Quasispecies genannt, sehr vielfältig. Durch Selektion von Varianten mit vorteilhaften Mutationen passt sich die Viruspopulation an die sich verändernden Umstände im Laufe einer Infektion an (94-96). Bei ausreichender Replikation können zum Beispiel „escape“-Varianten dem wachsenden

Druck des Immunsystems des Wirts entgehen oder unter nicht ausreichend wirksamer Therapie werden Viren mit RAMs bevorzugt selektiert (97).

Die Entwicklung der RAMs und deren Auswirkung auf Wirksamkeit der antiretroviralen Medikamente wurde bisher größtenteils nur für HIV-1 Viren mit dem Subtyp B untersucht, weil diese in den Ländern, in denen die Medikamente entwickelt werden, eben am häufigsten vorkommen und dort auch die finanziellen Mittel für die Forschung vorhanden sind (98; 99).

Bei Non-B Subtypen gibt es teilweise andere Kombinationen von Mutationen, die zu anderen Resistenzmustern und Pfaden der Resistenzentwicklung führen, die meisten RAMs haben aber auf HI-Viren der Gruppe M denselben Effekt (99).

### **2.8.1. NRTI-RAMs**

Mutationen, die mit Resistenz gegenüber NRTIs assoziiert sind, führen zur Resistenz durch einen von zwei verschiedenen Mechanismen. RAMs wie zum Beispiel M184V vermindern die Bindungsaffinität der NRTIs verglichen mit den natürlich vorkommenden dNTPs, dadurch werden NRTIs dann nicht mehr bevorzugt bei der reversen Transkription in den wachsenden DNA-Strang eingebaut (100; 101). Andere RAMs, wie zum Beispiel D67N, K70R und T215Y favorisieren die Nukleotidexzision. NRTIs, die normalerweise zu einem Strangabbruch führen würden, werden dann von der Reversen Transkriptase wieder aus dem DNA-Strang herausgeschnitten und die Transkription der viralen RNA in DNA kann fortgesetzt werden (102; 103).

Die sogenannten Thymidin-Analoga-Resistenz-Mutationen (TAMs) stellen eine Kombination aus mehreren Mutationen dar, die eine Resistenz gegen Thymidinanaloga (Zidovudin und Stavudin) verursachen (siehe Tab. 10) (104; 105). Zusätzlich gibt es noch Kreuzresistenzen gegenüber anderen NRTIs. Man unterscheidet zwei verschiedene TAM-Muster. Der erste Resistenzpfad beinhaltet die Mutationen T215Y, M41L und L210W, der zweite dahingegen D67N, T215F, K70R und K219QE (106). Nach der Entwicklung von TAMs entstehen meist weitere Mutationen, so zum Beispiel der T69 Insertions-Komplex, was zu einer Resistenz gegenüber einer Vielzahl der NRTIs führt (107-109).

Ein weiteres Mutationsmuster ist der Q151-Komplex. Mutationen an der Position 151 können in Kombination mit weiteren assoziierten Mutationen zu einer Multiresistenz gegenüber NRTIs führen (110; 111).

	Resistenz-assoziierte Mutation					TAMs^1					MDR^2		
	184	65	70	74	115	41	67	70	210	215	219	69	151
<b>Consensus^3</b>	M	K	K	L	Y	M	D	K	L	T	K	T	Q
<b>3TC</b>	<b>VI</b>	<b>R</b>										<b>Ins</b>	<b>M</b>
<b>FTC</b>	<b>VI</b>	<b>R</b>										<b>Ins</b>	<b>M</b>
<b>ABC</b>	VI	<b>R</b>	<b>E</b>	<b>VI</b>	<b>F</b>	L			W	FY		<b>Ins</b>	<b>M</b>
<b>DDI</b>	VI	<b>R</b>	<b>E</b>	<b>VI</b>		L			W	FY		<b>Ins</b>	<b>M</b>
<b>TDF</b>	<b>***</b>	<b>R</b>	<b>E</b>		F	L		R	W	FY		<b>Ins</b>	<b>M</b>
<b>D4T</b>	<b>***</b>	<b>R</b>	<b>E</b>			L	<b>N</b>	<b>R</b>	<b>W</b>	<b>FY</b>	QE	<b>Ins</b>	<b>M</b>
<b>ZDV</b>	<b>***</b>	<b>***</b>	<b>*</b>	<b>*</b>		L	<b>N</b>	<b>R</b>	<b>W</b>	<b>FY</b>	QE	<b>Ins</b>	<b>M</b>

Tabelle 10: Major NRTI Resistenzmutationen

Rot und fett gedruckt: höchstes Level eingeschränkter Suszeptibilität oder virologisches Ansprechen. Fett gedruckt: eingeschränkte Suszeptibilität oder virologisches Ansprechen. Normal gedruckt trägt in Kombination mit anderen NRTI-Resistenzmutationen zu eingeschränkter Suszeptibilität oder virologisches Ansprechen

1: Thymidin-Analoga-Resistenz-Mutationen; 2: multi-drug-resistance Mutationen; 3: Aminosäuren der HIV-1 Subtype B Referenzsequenz HXB2 (GeneBank accession number : K03455).

## 2.8.2. NNRTI-RAMs

Resistenzen gegen Erstgenerations-NNRTI wie Nevirapin und Efavirenz entstehen durch Mutationen von Aminosäuren die in oder in der Nähe der NNRTI-Bindungstasche liegen und so die Interaktion der NNRTIs mit der viralen RT verhindern oder aus den sterischen Gründen die Bindung an die virale RT hemmen (112; 113)(siehe Tab. 11). Neueste NNRTI wie Rilpivirin und Etravirin haben eine Pferdeschuh-ähnliche Form und können sich so flexibler an Veränderungen in der Bindungstasche durch Mutationen anpassen. Daher haben sie eine höhere genetische Barriere und es erfordert mehrere Mutationen, bis sich eine Resistenz gegen diese sogenannten Zweitgenerations-NNRTI entwickeln kann (114).

Konsensus^1	100	101	103	106	138	181	188	190	230
	L	K	K	V	E	Y	Y	G	M
<b>DOR</b>	I	EP		<b>AMI</b>		CIV	<b>LHC</b>	<b>SE</b>	<b>L</b>
<b>NVP</b>	I	<b>EP</b>	<b>NS</b>	<b>AM</b>		<b>CIV</b>	<b>LCH</b>	<b>ASE</b>	<b>L</b>
<b>EFV</b>	I	EP	<b>NS</b>	<b>AM</b>		CIV	<b>LCH</b>	<b>ASE</b>	<b>L</b>
<b>ETR</b>	I	EP			AGKQ	<b>CIV</b>	L	ASE	<b>L</b>
<b>RPV</b>	I	<b>EP</b>			<b>AGKQ</b>	<b>CIV</b>	<b>L</b>	ASE	<b>L</b>

Tabelle 11: Major NNRTI-Resistenzmutationen

Rot und fett gedruckt: höchstes Level eingeschränkter Suszeptibilität oder virologisches Ansprechen. Fett gedruckt: eingeschränkte Suszeptibilität oder virologisches Ansprechen. Normal gedruckt trägt in Kombination mit anderen NRTI-Resistenzmutationen zu eingeschränkter Suszeptibilität oder virologisches Ansprechen

1: Aminosäuren der HIV-1 Subtype B Referenzsequenz (GeneBank accession number : K03455).

### 2.8.3. PI-RAMs

Primäre Proteaseinhibitor-Resistenzen entstehen durch Mutationen innerhalb des Enzyms, die zu einer verminderten Bindungsaffinität der Inhibitoren führt, während die natürlichen Substrate der Protease weiterhin binden können (siehe Tab. 12) Die virale Fitness, also die Fähigkeit des Virus sich zu vermehren, kann negativ beeinträchtigt werden, da das Enzym durch die Mutationen an Funktion und Stabilität verliert (115-117). Durch sekundäre Mutationen kann das Enzym und seine katalytische Aktivität trotz primärer Mutationen wieder stabilisiert werden und das Virus kann in Anwesenheit von PIs wieder schnell replizieren (118).

	30	32	33	46	47	48	50	54	76	82	84	88	90
<i>Konsensus</i>	D	V	L	M	I	G	I	I	L	V	I	N	L
<b>ATV/r</b>		I	F	IL	V	<b>VM</b>	<b>L</b>	VTALM		ATFS	<b>V</b>	<b>S</b>	<b>M</b>
<b>DRV/r</b>		<b>I</b>	F		<b>VA</b>		<b>V</b>	<b>LM</b>	<b>V</b>	F	V		
<b>FPV/r</b>		<b>I</b>	<b>F</b>	<b>IL</b>	<b>VA</b>		<b>V</b>	<b>VTALM</b>	<b>V</b>	<b>ATSF</b>	<b>V</b>		<b>M</b>
<b>IDV/r</b>		<b>I</b>		<b>IL</b>	V			<b>VTALM</b>	<b>V</b>	<b>AFTS</b>	<b>V</b>	S	<b>M</b>
<b>LPV/r</b>		<b>I</b>	F	IL	<b>VA</b>	VM	<b>V</b>	<b>VTALM</b>	<b>V</b>	<b>AFTS</b>	<b>V</b>		M
<b>NFV</b>	<b>N</b>		F	<b>IL</b>	V	<b>VM</b>		<b>VTALM</b>		<b>AFTS</b>	<b>V</b>	<b>DS</b>	<b>M</b>
<b>SQV/r</b>						<b>VM</b>		<b>VTALM</b>		AT	<b>V</b>	S	<b>M</b>
<b>TPV/r</b>		I	F	IL	<b>VA</b>			<b>VAM</b>		<b>TL</b>	<b>V</b>		

Tabelle 12: Major PR-Resistenzmutationen

Rot und fett gedruckt: höchstes Level eingeschränkter Suszeptibilität oder virologisches Ansprechen. Fett gedruckt: eingeschränkte Suszeptibilität oder virologisches Ansprechen. Normal gedruckt trägt in Kombination mit anderen NRTI-Resistenzmutationen zu eingeschränkter Suszeptibilität oder virologisches Ansprechen

1: Aminosäuren der HIV-1 Subtype B Referenzsequenz (GeneBank accession number : K03455).

### 2.8.4. INI-RAMs

Integrase RAMs befinden sich häufig in der Nähe des katalytischen Zentrums des Enzyms, wo auch die Integraseinhibitoren binden (119). Bei resistenten Viren konnte eine schnellere Dissoziation der Inhibitoren von der IN beobachtet werden. Dolutegravir zeigt gegenüber Raltegravir und Elvitegravir auch bei mutierter IN eine langsamere Dissoziation, was wahrscheinlich die höhere genetische Barriere gegenüber Resistenzen bedingt (120).

Konsensus^1	66	92	118	138	1404	143	147	148	155	263
	T	E	G	E	G	Y	S	Q	N	R
Bictegravir(BIC)	K	Q	R	KAT	SAC			HRK	H	K
Dolutegravir(DTG)	K	Q	R	KAT	SAC			HRK	H	K
Elvitegravir(EVG)	<b>AIK</b>	<b>Q</b>	R	KAT	<b>SAC</b>		<b>G</b>	<b>HRK</b>	<b>H</b>	<b>K</b>
Raltegravir(RAL)	<b>AIK</b>	<b>Q</b>	R	KAT	<b>SAC</b>	<b>RCH</b>		<b>HRK</b>	<b>H</b>	K

Tabelle 13: IN-Resistenzmutationen

Rot und fett gedruckt: höchstes Level eingeschränkter Suszeptibilität oder virologisches Ansprechen. Fett gedruckt: eingeschränkte Suszeptibilität oder virologisches Ansprechen. Normal gedruckt trägt in Kombination mit anderen NRTI-Resistenzmutationen zu eingeschränkter Suszeptibilität oder virologisches Ansprechen

1: Aminosäuren der HIV-1 Subtype B Referenzsequenz (GeneBank accession number: K03455).

### 2.8.5. Resistenz gegenüber Maraviroc

RAMs wie in den anderen Medikamentenklassen gibt es bei Maraviroc nicht. Da der Angriffspunkt von Maraviroc kein virales Protein ist, kann keine virale Mutation die Bindungsfähigkeit von Maraviroc an den zellulären CCR5-Rezeptor behindern. Einige *in vitro* detektierte Mutationen in der V3-Schleife des Gens *env* resultieren in einer erhöhten Bindungsaffinität des HI-Virus an Maraviroc gebundene CCR5-Rezeptoren (121; 122). Diese findet man aber nicht *in vivo*.

Resistenz gegenüber Maraviroc in Patienten entwickelt das HI-Virus unter anderem durch einen sogenannten „coreceptor-switch“. Dieser Wechsel geschieht im Rahmen der fortschreitenden HIV-Infektion. Initial überwiegen CCR5-trope Viren, im weiteren Verlauf nehmen jedoch die CXCR4-tropen Viren zu, in der Übergangsphase kommen auch dualtrope Viren vor (45; 72; 123). Durch Modifikationen in der V3 Aminosäuresequenz ist das Virus in der Lage, anstatt an den CCR5-Rezeptor an den CXCR4-Rezeptor zu binden (72). Da Maraviroc ein CCR5-Rezeptor-Antagonist ist, kann das HI-Virus über den CXCR4-Rezeptor ungehindert in die Wirtszelle eindringen. Im Gegensatz zu allen anderen Medikamentenklassen der ART sind keine bestimmten Mutationen mit einem Wechsel des Korezeptorgebrauches assoziiert. Vielmehr ist dieser veränderte Korezeptorgebrauch den allgemeinen Eigenschaften der V3-Schleife zuzuschreiben, wie zum Beispiel Veränderung von Hydrophobizität oder elektrischer Ladung (124). Daher war die Entwicklung bioinformatischer Interpretationssysteme zu Vorhersagung einer möglichen Maraviroc-Resistenz viel schwieriger als bei den anderen Medikamentenklassen.

## 2.8.6. Resistenz gegenüber Fusionsinhibitoren

Resistenz gegenüber Enfuvirtide entsteht durch Mutationen von Aminosäuren an ca. 10 verschiedenen Positionen (36-45) an der Bindungsstelle des Glykoproteins gp41(125). Resistente Viren zeigen jedoch eine erniedrigte Replikationsrate (126).

## 2.9 Resistenzmonitoring bei Beginn und Versagen der Therapie

Resistenztestung wird routinemäßig anhand von Untersuchung des viralen Genoms, welches aus Blutproben der Patienten isoliert wird, auf das Vorhandensein von RAMs durchgeführt. Diese Verfahren nennt man genotypische Analyse (127). Bei ausreichender Viruslast wird die virale RNA genutzt, bei nicht ausreichender Viruslast wird dahingegen die provirale DNA aus den im Blut zirkulierenden PBMCs isoliert. Dann werden die entsprechenden Regionen im Genom, die für Zielstrukturen der antiretroviralen Therapie kodieren, amplifiziert und sequenziert. Die so gewonnenen Sequenzen werden dann anhand bioinformatischer Interpretationssysteme wie zum Beispiel unter anderem geno2pheno (<https://www.geno2pheno.org/>), HIV-GRADE (<https://www.hiv-grade.de/cms/grade/homepage/>) oder Stanford HIVdb (<https://hivdb.stanford.edu/hivdb/by-sequences/>) analysiert (127).



Abb.7: Screenshot der Resistenzvorhersageergebnisse von geno2pheno

Resistenzen können nicht nur genotypisch, sondern auch phänotypisch untersucht werden. Bei dieser Methode wird die virale Replikationsrate in Zellkulturen in Gegenwart bestimmter

Konzentration von antiretroviralen Medikamenten untersucht. Phänotypische Resistenzuntersuchungen werden aber nicht mehr in der Routine eingesetzt, sondern bei Zulassungsstudien neuer antiretroviraler Medikamente und bei besonders komplizierten Fällen, da sie zum einen teuer und zeitaufwendig sind und zum anderen biosichere Labore erfordern (127).

Weltweit wird ein Resistenzmonitoring vor Therapiebeginn und bei Therapieversagen empfohlen, in West- und Zentraleuropa werden 86% der Patienten vor Therapiebeginn und 90% bei Therapieversagen getestet. In Osteuropa und Russland ist die Resistenztestung vor Beginn einer ART und auch bei Therapieversagen längst kein Standard. Es werden nur 17% vor Therapiebeginn und 58% bei Therapieversagen getestet. Auch hinsichtlich der Kriterien, ab wann eine ART zu beginnen ist, gibt es Unterschiede (67; 78). Resistenztestung ist in Russland erst seit 2007 verfügbar, Resistenzmonitoringprogramme existieren derzeit nicht. In einigen ehemals sowjetischen Ländern ist die Resistenztestung überhaupt nicht verfügbar (9). Laut der aktuellen Leitlinien der European AIDS Society Clinical Society und auch der WHO wird eine Resistenztestung so schnell wie möglich nach Diagnosestellung und auch bei Therapieversagen empfohlen (59; 67).

### **3. Publikation**

Methoden und Ergebnisse werden in dem folgenden Artikel, der in *Viruses* 2020 publiziert wurde, zusammengefasst.

*Viruses* 2020, 12(4), 475; <https://doi.org/10.3390/v12040475>

### 3.1 Hauptartikel



Article

## HIV-1 Sub-Subtype A6: Settings for Normalised Identification and Molecular Epidemiology in the Southern Federal District, Russia

Madita Schlösser <sup>1</sup>, Vladimir V. Kartashev <sup>2,3,4</sup>, Visa H. Mikkola <sup>1</sup>, Andrey Shemshura <sup>5</sup>, Sergey Saukhat <sup>3</sup>, Dmitriy Kolpakov <sup>2</sup>, Alexandr Suladze <sup>2</sup>, Tatiana Tverdokhlebova <sup>2</sup>, Katharina Hutt <sup>1</sup>, Eva Heger <sup>1</sup>, Elena Knops <sup>1</sup>, Michael Böhm <sup>1</sup>, Veronica Di Cristanziano <sup>1</sup>, Rolf Kaiser <sup>1</sup>, Anders Sønnerborg <sup>6</sup>, Maurizio Zazzi <sup>7</sup>, Marina Bobkova <sup>8</sup> and Saleta Sierra <sup>1,\*</sup>

- <sup>1</sup> Institute of Virology, Faculty of Medicine and University Hospital of Cologne, University of Cologne, 50935 Cologne, Germany; madita.schloesser@gmx.de (M.S.); visa.h.mikkola@gmail.com (V.H.M.); katharina.hutt@gmail.com (K.H.); eva.heger@uk-koeln.de (E.H.); elena.knops@uk-koeln.de (E.K.); michael.boehm@uk-koeln.de (M.B.); veronica.di-cristanziano@uk-koeln.de (V.D.C.); rolf.kaiser@uk-koeln.de (R.K.)
  - <sup>2</sup> Russian Southern Federal Center for HIV Control, 344000 Rostov-na-Donu, Russia; vkrt@yandex.ru (V.V.K.); dimakolpakov@mail.ru (D.K.); sualrostov@mail.ru (A.S.); rostovniimp@mail.ru (T.T.)
  - <sup>3</sup> Department of Infectious Diseases, Rostov State Medical University, 344022 Rostov-na-Donu, Russia; sauhat@yandex.ru
  - <sup>4</sup> Martsinovskiy Institute of Medical Parasitology, Tropical and Vector Borne Diseases, Sechenov First Moscow State Medical University, 119435 Moscow, Russia
  - <sup>5</sup> Clinical Center of HIV/AIDS of the Ministry of Health of Krasnodar Region, 350015 Krasnodar, Russia; shemsh@mail.ru
  - <sup>6</sup> Division of Clinical Microbiology, Department of Laboratory Medicine, Karolinska Institutet, 17177 Stockholm, Sweden; Anders.Sonnerborg@ki.se
  - <sup>7</sup> Department of Medical Biotechnology, University of Siena, 53100 Siena, Italy; maurizio.zazzi@unisi.it
  - <sup>8</sup> Department of General Virology, Gamaleya Research Center of Epidemiology and Microbiology, 123098 Moscow, Russia; mrbobkova@mail.ru
- \* Correspondence: saleta.sierra-aragon@uk-koeln.de; Tel.: +49-221-4788-5807

Received: 20 March 2020; Accepted: 17 April 2020; Published: 22 April 2020



**Abstract:** Russia has one of the largest and fastest growing HIV epidemics. However, epidemiological data are scarce. Sub-subtype A6 is most prevalent in Russia but its identification is challenging. We analysed protease/reverse transcriptase-, integrase-sequences, and epidemiological data from 303 patients to develop a methodology for the systematisation of A6 identification and to describe the HIV epidemiology in the Russian Southern Federal District. Drug consumption (32.0%) and heterosexual contact (27.1%) were the major reported transmission risks. This study successfully established the settings for systematic identification of A6 samples. Low frequency of subtype B (3.3%) and large prevalence of sub-subtype A6 (69.6%) and subtype G (23.4%) were detected. Transmitted PI- (8.8%) and NRTI-resistance (6.4%) were detected in therapy-naïve patients. In therapy-experienced patients, 17.3% of the isolates showed resistance to PIs, 50.0% to NRTI, 39.2% to NNRTIs, and 9.5% to INSTIs. Multiresistance was identified in 52 isolates, 40 corresponding to two-class resistance and seven to three-class resistance. Two resistance-associated-mutations significantly associated to sub-subtype A6 samples: A62V<sub>RT</sub> and G190S<sub>RT</sub>. This study establishes the conditions for a systematic annotation of sub-subtype A6 to normalise epidemiological studies. Accurate knowledge on South Russian epidemiology will allow for the development of efficient regional frameworks for HIV-1 infection management.

**Keywords:** HIV; drug resistance; subtyping; epidemiology; A6; IDU-A; A-FSU; Russia

---

## 1. Introduction

Considerable progress in the fight against HIV/AIDS has already been made, with rates of new infections declining in almost all world regions. However, Eastern Europe and Central Asia showed an alarming increase in annual infection rates of 29% between 2010–2018 [1]. Russia, with over 1.16 million estimated infections by mid-2017 [2,3], is also one of the countries accounting for 89% of all new HIV infections worldwide. However accurate, global Russian data are scarce. Significantly, even the basic incidence and prevalence estimates generated by the Joint United Nations Programme on HIV/AIDS (UNAIDS) cannot be released for Russia because of political sensitivities. Existing knowledge is based only on a limited number of publications, mostly restricted to Moscow and St. Petersburg areas [4], and on reports from several Russian administrative agencies, though the latter are only in the Russian language. Launched in 2014, the UNAIDS Fast-Track strategy outlined plans to step up the HIV response in critical world regions and end AIDS as a public health threat by 2030 ([https://www.unaids.org/en/resources/documents/2014/JC2686\\_WAD2014report](https://www.unaids.org/en/resources/documents/2014/JC2686_WAD2014report)). The first step for such an approach must be the identification of the human target population(s), which can differ from region to region. This information, together with the molecular characterisation of the circulating viral strains, will allow for the development of an efficient and specific regional frameworks for HIV-1 prevention, treatment, and monitoring.

The current Russian HIV scenario has been shaped by a massive epidemic in Ukraine and Southern Russia in the mid-1990s, which spread a new sub-subtype: the “Russian A1”, also referred to as “IDU-A”, or “A-FSU” [3,5–10]. Phylogenetics has shown that the “Russian A1” is different from the African A1, leading to a classification as the sub-subtype A6 within the subtype A [11]. However, detection of A6 is challenging as there is no reference sequence yet, which in turn impedes the systematic identification by any of the HIV subtyping tools currently used in routine diagnostics. Published epidemiological studies reporting A6 samples have used different genomic regions as well as different sequences as a reference [7,8,12–15], leading to unsystematic annotation in GenBank and Los Alamos databases. Therefore, the A6 prevalence worldwide is largely unexplored.

A unique feature further differentiates the HIV-1 epidemiology in the Southern Federal District from the rest of the country: the high prevalence of subtype G isolates [3,15]. This can be retraced to a clonal infection episode of more than 250 children after exposure to non-sterile needles during the years 1988 and 1989. The index case was a child admitted to Elista hospital, vertically infected by his mother who, in turn, got infected from her husband after military services in Central Africa [3,16–19].

The aim of this study was to provide a much needed setting for systematic A6 identification as well as comprehensive data on the HIV epidemiology in the Russian Southern Federal District.

## 2. Patients and Methods

### *Study Design and Participants*

Blood samples and clinical data from all patients attending the Russian Southern Federal Centre for HIV Control (Rostov-na-Donu), Rostov State Medical University Hospital and the Krasnodar Clinical Centre for HIV Control in 1990 to 2015 were collected. This study was retrospective and non-interventional. All samples were initially analysed for diagnostic purposes within the Rostov-na-Donu-Cologne cooperation project (Ethics approval #246). Enrolment criteria were confirmed HIV infection and availability of one blood sample and provided written consent. Three hundred twenty-eight patients fulfilled these criteria. The final inclusion criterion for the study was availability of at least the reverse transcriptase (RT) and/or protease (PR) sequence from the blood sample. Three hundred three patients were included in the analyses.

Epidemiological data concerning reported transmission route, date of birth, and sex were collected at the treating sites. Data were anonymised for the study and stored in the Avenir database.

Viral RNA isolation and RT-PCR amplification for protease-reverse transcriptase (PRRT), reverse transcriptase (RT), and integrase (IN) were completed as previously described [20] with subtype-optimized primers. Next-Generation-Sequencing (MiSeq, Illumina) with a 15% cut-off was performed. Initial subtyping was done based on the RT (or PR region when the RT was not available) using the geno2pheno system (<http://www.geno2pheno.org/>) and Stanford HIVdb PROGRAM (HIVdb; <https://hivdb.stanford.edu/hivdb/by-mutations/>). Final subtyping of A1 or A-containing recombinant forms was based on phylogenetic analysis.

Four main datasets were used for the phylogeny: i) RUS: 222 RT sequences from our patients, initially predicted as A1 or one of the A-containing recombinants forms 01\_AE, 02\_AG, or 03\_AE; ii) RUS-A6: 211 samples from the RUS dataset classified as A6 through our first phylogenetic analysis; iii) A6-POL-LA: 68 available A6-annotated *pol* sequences from the Los Alamos database (LA) (GenBank accession numbers in File S1); and iv) REF-LA: 40 subtype reference sequences from LA (Table S1) [21]. Two additional datasets were used for subtype prevalence comparison: v) RU-LA: 8355 LA HIV-1 sequences (any region) from Russia; and vi) FSU-LA: 12510 LA HIV-1 sequences (any region) from the former Soviet Union (FSU) countries (including the 8388 from RU-LA). An overview of all datasets is provided in Table S2.

LA searches were performed using the *search DB tool* (<https://www.hiv.lanl.gov/components/sequence/HIV/search/search.html>), or the *Geography Search Interface* (<https://www.hiv.lanl.gov/components/sequence/HIV/geo/geo.comp>) with “former USSR” or “Russian federation” as selected regions. Problematic sequences (classified as such in LA; [https://www.hiv.lanl.gov/components/sequence/HIV/search/help.html#bad\\_seq](https://www.hiv.lanl.gov/components/sequence/HIV/search/help.html#bad_seq)) and entries without annotated subtypes were excluded.

Phylogenetic analyses were performed using the Mega 7 software [22]. Multiple alignments of DNA sequences were generated using the Muscle tool using UPGMB for clustering with a minimum diagonal length of 24 and a maximum of eight iterations [23]. These alignments were used to compute nucleotide pairwise distances and neighbour-joining (NJ) analysis, using the maximum composite method in both cases.

A6 consensus sequences were generated using MutExt software (E. Schülter, University of Cologne) and the Advanced Consensus Maker tool from Los Alamos (<https://www.hiv.lanl.gov/content/sequence/CONSENSUS/AdvCon.html>). High cut-offs of 70%–90% and lower cut-offs of 30%–50% were used.

Resistance-associated-mutations (RAMs) and drug susceptibility profiles were analysed with the Stanford HIVdb [24]. Resistance levels of 1–2 were considered susceptible, levels of 3–4 as intermediate resistant, and 5 as fully resistant. Resistance levels 3–5 were considered clinically relevant. Drug class susceptibility was calculated as the highest level of resistance for any of the drugs included within the class.

We performed descriptive analyses for patients’ sex, year of birth, and transmission route as well as for viral subtypes, circulating recombinant forms (CRFs), RAMs, and drug susceptibility. We present genetic data as median pairwise distances with interquartile range values.

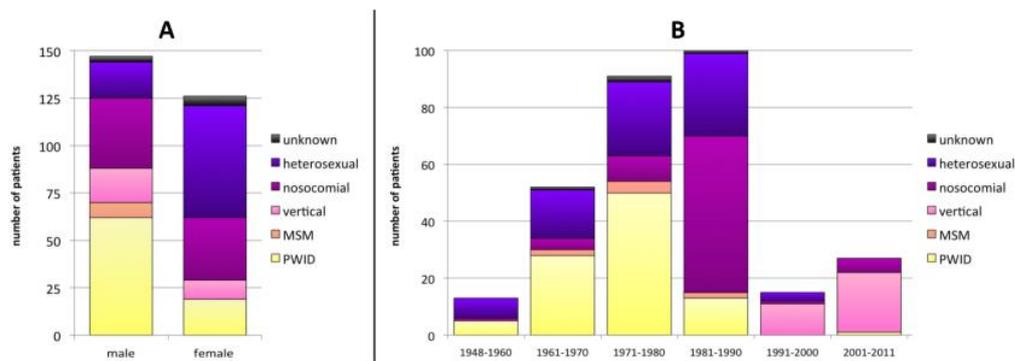
Statistical analysis of categorical variables was performed with the Fisher’s exact probability test using  $2 \times 2$  contingency tables (<http://vassarstats.net/tab2x2.html>). All *p* values were two-tailed. Significant differences were considered as *p* values < 0.05.

### 3. Results

#### 3.1. Baseline Characteristics

Twenty-five samples could not be amplified in the RT and/or PR regions due to low viral load. Therefore 303/328 patients were included in the final analysis. One hundred fifty (49.5%) individuals were male, 126 (38.4%) female, and 27 (8.9%) unknown (not reported). In terms of the disclosed transmission routes, 97 (32.0%) patients were persons who inject drugs (PWID), 82 (27.1%)

were heterosexuals, 76 (25.1%) were from late-1980's nosocomial infections, 32 (10.6%) were vertical infections, 8 (2.6%) were men having sex with men (MSM), and for 8 (2.6%) the transmission route was not reported. Males were significantly more often PWID (42.2% of male infections;  $p < 0.001$ ), whereas females were more likely to have been infected through heterosexual contact (46.8% of female infections;  $p < 0.001$ ) (Figure 1A).



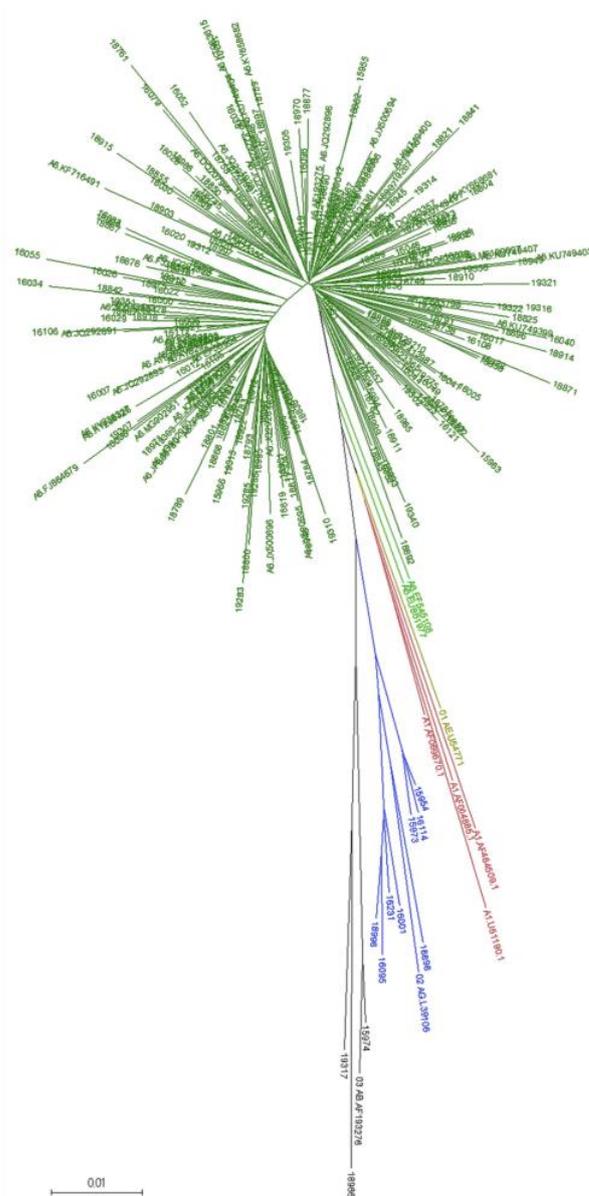
**Figure 1.** Transmission route distribution according to sex (A) and the year of birth (B). MSM: men having sex with men; PWID: persons who inject drugs.

The year of birth was known for 298 patients: 65 (21.8%) were born in 1948–1970, 191 (64.1%) in 1971–1990, and 42 (14.1%) in 1991–2011 (Figure 1B). No clear changes in the sex distribution pattern based on the year of birth were detected (Table S3). Nosocomial infections were associated to a birth year between 1981 and 1990 (55.0% in this age group;  $p < 0.001$ ). Infections in PWID were significantly more frequent in patients born in 1948–1980 (53.0% of all infections in patients in this age group) than in younger patients born in or after 1981 (9.9%;  $p < 0.001$ ). Heterosexual transmission rate decreased with the patients' age from 53.8% (birth 1948–1960) to 20.0% (1991–2011).

Therapy information was available for 249/303 patients, of which 121 were therapy-naïve (TN) at sampling time and 128 therapy-experienced (TE). All TE patients had received NRTIs. Twenty-two TE patients had undergone one zidovudine (AZT) monotherapy and 2 patients two AZT monotherapies. In addition, 65/128 (50.8%) patients had been treated with NNRTIs, 59/128 (46.1%) with PIs, and one (0.8%) with INSTIs.

### 3.2. Viral Subtype Distribution

Initial subtyping classified 222 RT samples predicted as subtype A or as subtype A-containing recombinant forms. They were subjected to phylogenetic analysis together with the A6-POL-LA dataset, and A1, 02\_AG, 01\_AE, and 03\_AB reference sequences. The generated NJ tree showed a cluster comprising 211 RUS samples and 66/68 A6-POL-LA sequences; EF545108, EU861977 sequences located intermediate between A6, CRF01\_AE, and A1 sequences (Figure 2). This analysis classified two initially A1-predicted sequences as 03\_AB and one A1 as 02\_AG. The 01\_AE sample #16020 was reclassified as A6.



**Figure 2.** Neighbour-joining (NJ) tree for the identification of A6 samples. Samples EF545108 and EU861977 are highlighted in lime green.

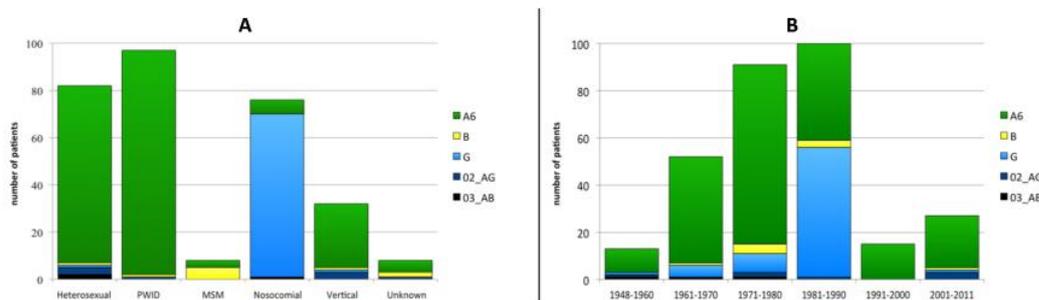
The RUS-A6 and A6-POL-LA datasets were used to generate ten different consensus sequences. The consensus sequence generated by MutExt using the high- and low-cut-offs of 70% and 50%, respectively, was selected as the reference consensus sequence (A6\_pol\_reference consensus sequence; nt. sequence in Supplementary Material, page 1). It showed the lowest maximal pairwise distance (0.034) as well as median distance (0.014; IQR 0.010–0.019) to any A6 sequence (Figure S1). EF545108 and EU861977 were the most distant sequences, with genetic distances to the A6\_pol\_reference consensus sequence of 0.031 and 0.034, respectively. These two sequences were still closer to A6 than to A1, as the minimal pairwise distances to any A1 reference sequence were 0.069 and 0.062, and the median distances to the four A1 references were 0.077 (0.073–0.083) and 0.070 (0.067–0.074), respectively. Subsequently, the A6\_pol\_reference consensus sequence was aligned to the REF-LA dataset (Figure S2).

The A1 reference sequences were the closest genetically, with a minimal pairwise distance of 0.050 (Table S4). The maximal pairwise distance to our reference consensus sequence for a query sample to be classified as A6 was selected as 0.040. This cut-off significantly discriminated A6 samples in the RUS dataset ( $p < 0.001$ ).

Applying the above criteria, the final subtype distribution in the 303 Southern Russia sequences was: 211 (69.6%) A6, 71 (23.4%) G, 10 (3.3%) B, 8 (2.6%) CRF 02\_AG, and 3 (1.0%) CRF 03\_AB (GenBank accession numbers MK029062-MK029336). Detailed information on subtypes and CRFs prevalence in the Southern Federal District, Russia (RU-LA dataset) and FSU countries (FSU-LA dataset) are listed in Table S5. Subtype G was significantly more prevalent in our Southern Russian dataset ( $p < 0.001$ ) while the CRF63\_02A was significantly more prevalent in the FSU-LA than in the RU-LA dataset ( $p < 0.001$ ).

Heterogeneity analysis within the RUS-A6 dataset analysis showed a maximal genetic distance of 0.034, and a median of 0.013 (0.025–0.040). Subtype G isolates showed higher variability, with a maximal pair distance of 0.090 and an overall median distance of 0.042 (0.030–0.053).

There were no significant divergences in the subtype distribution between males and females. On the other hand, differences were found in subtype distribution depending on the transmission route (Figure 3A). Subtype G detection correlated with nosocomial infections (90.8%;  $p < 0.001$ ) and subtype B infections significantly associated to MSM (62.5%;  $p < 0.001$ ). The subtype distribution was independent of patients' date of birth, with the exception of subtype G infections, which significantly correlated with a birth date between 1981 and 1990 (55.0%;  $p < 0.001$ ; Figure 3B). This subtype was detected only in patients born before 1991 with only one exception: one vertical transmission in 2005 from a patient nosocomially infection in the late 1980s.



**Figure 3.** HIV-1 subtype distribution according to transmission route (A) and the year of birth (B) PWID: persons who inject drugs; MSM: men having sex with men.

### 3.3. Resistance-Associated-Mutations (RAMs) and Drug-Susceptibility Profiles

Two hundred sixty-one PR, 277 RT, and 61 IN sequences were available and screened for RAMs (Table 1; Table S6). Two PI-, six NRTI-, and four NNRTI-RAMs were found to be significantly associated with therapy experience.

Detection of  $\geq 2$  NRTI-RAMs correlated with a history of  $\geq 3$  NRTIs ( $p < 0.001$ ) and with a record of AZT monotherapy ( $p < 0.001$ ). Detection of  $\geq 1$  NNRTI-RAMs or major PI-RAMs correlated with a history of  $\geq 1$  NRTIs or PIs, ( $p < 0.001$  for both cases).

The prevalence of specific RAMs significantly correlated to viral subtype. RAMs I54A<sub>PR</sub>, L90M<sub>PR</sub>, M41L<sub>RT</sub>, D67N<sub>PR</sub>, and T215F<sub>PR</sub> were significantly more frequent in subtype G isolates. Conversely, A62V<sub>PR</sub> and G190S<sub>PR</sub> correlated with A6 infections. A62V<sub>PR</sub> was detected in 60/191 (31.4%) of the A6 sequences. No significant difference in the prevalence between TN (29/76; 38.2%) and TE (22/75; 29.3%) patients was observed. On the other hand, G190S<sub>PR</sub> was not detected in any TN patient but in 14/75 (18.7%) of the TE patients. Moreover, G190S<sub>PR</sub> was observed in 16/30 (53.3%) of the efavirenz (EFV)-exposed patients, resulting in a significant association of this RAM in the context of A6 and EFV-exposure ( $p < 0.001$ ).

**Table 1.** Resistance-associated-mutations (RAMs) detected in the protease (PR), reverse transcriptase (RT) and integrase (IN) sequences according to antiretroviral class.

RAMs	Total <sup>1</sup>	Patients			p Value <sup>5</sup>
		TN <sup>2</sup>	TE <sup>3</sup>	No Data <sup>4</sup>	
<b>PI</b>	<b>261</b>	<b>102</b>	<b>110</b>	<b>49</b>	
D30N	1 (0.4%)	0 (0.0%)	1 (0.9%)	0 (0.0%)	≥0.05
M46IL	13 (5.0%)	2 (2.0%)	9 (8.2%)	2 (4.1%)	≥0.05
G48V	2 (0.8%)	2 (2.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	≥0.05
I50VL	4 (1.5%)	0 (0.0%)	3 (2.7%)	1 (2.0%)	≥0.05
I54AV	8 (3.1%)	1 (1.0%)	6 (5.5%)	1 (2.0%)	≥0.05
L76V	2 (0.8%)	1 (1.0%)	1 (0.9%)	0 (0.0%)	≥0.05
<b>V82AFMST</b>	<b>10 (3.8%)</b>	<b>1 (1.0%)</b>	<b>8 (7.3%)</b>	<b>1 (2.0%)</b>	<b>0,0363</b>
N88S	1 (0.4%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	1 (2.0%)	≥0.05
<b>L90M</b>	<b>10 (3.8%)</b>	<b>1 (1.0%)</b>	<b>8 (7.3%)</b>	<b>1 (2.0%)</b>	<b>0,0363</b>
<b>NRTIs</b>	<b>277</b>	<b>109</b>	<b>120</b>	<b>48</b>	
M41L	22 (7.9%)	1 (0.9%)	<b>19 (15.8%)</b>	2 (4.2%)	<b>&lt;0.0001</b>
E44D	1 (0.4%)	0 (0.0%)	1 (0.8%)	0 (0.0%)	≥0.05
A62V	61 (22.0%)	30 (27.5%)	22 (18.3%)	9 (18.8%)	≥0.05
D67G	3 (1.1%)	1 (0.9%)	2 (1.7%)	0 (0.0%)	≥0.05
<b>D67N</b>	<b>17 (6.1%)</b>	<b>1 (0.9%)</b>	<b>13 (10.8%)</b>	<b>3 (6.3%)</b>	<b>0.0016</b>
K65DEN	4 (1.4%)	1 (0.9%)	3 (2.5%)	0 (0.0%)	≥0.05
T69DN	3 (1.1%)	0 (0.0%)	3 (2.5%)	0 (0.0%)	≥0.05
T69G_SG	1 (0.4%)	0 (0.0%)	1 (0.8%)	0 (0.0%)	≥0.05
<b>K70ER</b>	<b>14 (5.1%)</b>	<b>1 (0.9%)</b>	<b>11 (9.2%)</b>	<b>2 (4.2%)</b>	<b>0.0058</b>
L74IV	9 (3.2%)	0 (0.0%)	6 (5.0%)	3 (6.3%)	≥0.05
V75AIM	5 (1.8%)	0 (0.0%)	5 (4.2%)	0 (0.0%)	≥0.05
Y115F	2 (0.7%)	0 (0.0%)	1 (0.8%)	1 (2.1%)	≥0.05
<b>M184IV</b>	<b>60 (21.7%)</b>	<b>5 (4.6%)</b>	<b>44 (36.7%)</b>	<b>11 (22.9%)</b>	<b>&lt;0.0001</b>
<b>L210W</b>	<b>8 (2.9%)</b>	<b>0 (0.0%)</b>	<b>8 (6.7%)</b>	<b>0 (0.0%)</b>	<b>0.0073</b>
<b>T215CFILNSY</b>	<b>38 (13.7%)</b>	<b>1 (0.9%)</b>	<b>33 (27.5%)</b>	<b>4 (8.3%)</b>	<b>&lt;0.0001</b>
<b>K219ENQ</b>	<b>16 (5.8%)</b>	<b>1 (0.9%)</b>	<b>12 (10.0%)</b>	<b>3 (6.3%)</b>	<b>0.0030</b>
<b>NNRTI</b>	<b>277</b>	<b>109</b>	<b>120</b>	<b>48</b>	
A98G	2 (0.7%)	0 (0.0%)	2 (1.7%)	0 (0.0%)	≥0.05
<b>K101EHPQ</b>	<b>11 (4.0%)</b>	<b>0 (0.0%)</b>	<b>9 (7.5%)</b>	<b>2 (4.2%)</b>	<b>0.0036</b>
L100F	2 (0.7%)	0 (0.0%)	2 (1.7%)	0 (0.0%)	≥0.05
<b>K103NS</b>	<b>28 (10.1%)</b>	<b>0 (0.0%)</b>	<b>24 (20.0%)</b>	<b>4 (8.3%)</b>	<b>&lt;0.0001</b>
V106A	1 (0.4%)	0 (0.0%)	1 (0.8%)	0 (0.0%)	≥0.05
V108I	6 (2.2%)	0 (0.0%)	3 (2.5%)	3 (6.3%)	≥0.05
E138AGHKQR	20 (7.2%)	5 (4.6%)	13 (10.8%)	2 (4.2%)	≥0.05
V179DE	6 (2.2%)	2 (1.8%)	4 (3.3%)	0 (0.0%)	≥0.05
<b>Y181CFIV</b>	<b>13 (4.7%)</b>	<b>0 (0.0%)</b>	<b>11 (9.2%)</b>	<b>2 (4.2%)</b>	<b>0.0009</b>
Y188LS	4 (1.4%)	1 (0.9%)	3 (2.5%)	0 (0.0%)	≥0.05

Table 1. Cont.

RAMs	Total <sup>1</sup>	Patients			p Value <sup>5</sup>
		TN <sup>2</sup>	TE <sup>3</sup>	No Data <sup>4</sup>	
<b>G190AS</b>	21 (7.6%)	0 (0.0%)	<b>18 (15.0%)</b>	3 (6.3%)	<b>&lt;0.0001</b>
H221Y	2 (0.7%)	0 (0.0%)	2 (1.7%)	0 (0.0%)	≥0.05
P225H	4 (1.4%)	0 (0.0%)	3 (2.5%)	1 (2.1%)	≥0.05
F227L	1 (0.4%)	0 (0.0%)	1 (0.8%)	0 (0.0%)	≥0.05
M230L	1 (0.4%)	0 (0.0%)	1 (0.8%)	0 (0.0%)	≥0.05
K238T	1 (0.4%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	1 (2.1%)	≥0.05
Y318F	1 (0.4%)	0 (0.0%)	1 (0.8%)	0 (0.0%)	≥0.05
<b>INSTI</b>	<b>61</b>	<b>19</b>	<b>21</b>	<b>21</b>	
T6TK	1 (1.6%)	0 (0.0%)	1 (4.8%)	0 (0.0%)	≥0.05
G140A	1 (1.6%)	0 (0.0%)	1 (4.8%)	0 (0.0%)	≥0.05
Q148R	1 (1.6%)	0 (0.0%)	1 (4.8%)	0 (0.0%)	≥0.05
N155H	1 (1.6%)	0 (0.0%)	1 (4.8%)	0 (0.0%)	≥0.05

<sup>1</sup> All available sequences; <sup>2</sup> samples from therapy-naïve (TN) patients; <sup>3</sup> samples from therapy-experienced (TE) patients; <sup>4</sup> samples from patients whose therapy records were not available; <sup>5</sup> calculated considering only TN versus TE samples. T69G\_SG indicates an insertion of S in residue number 69. Statistically significant differences between TN and TE are highlighted in bold.

Drug class susceptibility data are provided in Table 2. Transmitted drug resistance (TDR) was detected in TN patients: 8.8% of the isolates showed transmitted resistance to PIs and 6.4% to NRTIs. No TDR to NNRTIs or INSTIs was detected. In TE patients, 17.3% of the PR sequences were clinically resistant to PIs, 50.0% to NRTIs, 39.2% to NNRTIs, and 9.5% to INSTIs. Multiresistance was detected in 52 isolates, 40 corresponding to two-class and seven to three-class multiresistance.

Table 2. Number of available sequences and drug susceptibility.

		Total <sup>1</sup>	Patients		
			TN <sup>2</sup>	TE <sup>3</sup>	No Data <sup>4</sup>
<b>Available PR Sequences</b>		<b>261</b>	<b>102</b>	<b>110</b>	<b>49</b>
PI	IR	11 (4.2%)	6 (5.9%)	5 (4.5%)	0 (0.0%)
	FR	21 (8.0%)	3 (2.9%)	14 (12.7%)	4 (8.2%)
	CR-resistance	32 (12.3%)	9 (8.8%)	19 (17.3%)	4 (8.2%)
<b>Available RT Sequences</b>		<b>277</b>	<b>109</b>	<b>120</b>	<b>48</b>
NRTI	IR	9 (3.2%)	2 (1.8%)	6 (5.0%)	1 (2.1%)
	FR	72 (26.0%)	5 (4.6%)	54 (45.0%)	13 (27.1%)
	CR-resistance	81 (29.2%)	7 (6.4%)	60 (50.0%)	14 (29.2%)
NNRTI	IR	2 (0.7%)	0 (0.0%)	1 (0.8%)	1 (2.1%)
	FR	54 (19.5%)	0 (0.0%)	46 (38.3%)	8 (16.7%)
	CR-resistance	56 (20.2%)	0 (0.0%)	47 (39.2%)	9 (18.8%)
NRTI + NNRTI	IR	3 (1.1%)	0 (0.0%)	2 (1.7%)	1 (2.1%)
	FR	30 (10.83%)	0 (0.0%)	26 (21.7%)	4 (8.3%)
	CR-resistance	33 (11.9%)	0 (0.0%)	28 (23.3%)	5 (10.4%)
<b>Available PR + RT Sequences</b>		<b>260</b>	<b>102</b>	<b>109</b>	<b>49</b>
PI + NRTI	IR	1 (0.4%)	1 (1.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)
	FR	9 (3.5%)	2 (2.0%)	5 (4.6%)	2 (4.1%)
	CR-resistance	10 (3.8%)	3 (2.9%)	5 (4.6%)	2 (4.1%)

Table 2. Cont.

		Total <sup>1</sup>	Patients		
			TN <sup>2</sup>	TE <sup>3</sup>	No Data <sup>4</sup>
PI + NNRTI	IR	1 (0.4%)	0 (0.0%)	1 (0.9%)	0 (0.0%)
	FR	1 (0.4%)	0 (0.0%)	1 (0.9%)	0 (0.0%)
	CR-resistance	2 (0.8%)	0 (0.0%)	2 (1.8%)	0 (0.0%)
PI + NRTI + NNRTI	IR	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)
	FR	5 (1.9%)	0 (0.0%)	3 (2.8%)	2 (4.1%)
	CR-resistance	5 (1.9%)	0 (0.0%)	3 (2.8%)	2 (4.1%)
<b>Available IN Sequences</b>		<b>61</b>	<b>19</b>	<b>21</b>	<b>21</b>
INSTI	IR	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)
	FR	2 (3.3%)	0 (0.0%)	2 (9.5%)	2 (4.1%)
	CR-resistance	3 (3.3%)	0 (0.0%)	2 (9.5%)	2 (4.1%)
<b>Available RT + IN Sequences</b>		<b>52</b>	<b>18</b>	<b>17</b>	<b>17</b>
NRTI + NNRTI + INSTI	IR	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)
	FR	2 (3.8%)	0 (0.0%)	2 (11.8%)	0 (0.0%)
	CR-resistance	2 (3.8%)	0 (0.0%)	2 (11.8%)	0 (0.0%)

<sup>1</sup> All available sequences; <sup>2</sup> samples from therapy-naive patients; <sup>3</sup> samples from therapy-experienced patients; <sup>4</sup> samples from patients whose therapy records were not available; IR: intermediate resistance; FR: fully-resistant; CR-resistance: clinically relevant resistance, calculated as the addition of IR and FR.

#### 4. Discussion

This study provides a comprehensive description of the Southern Russian HIV-1 epidemiology using samples obtained from 303 patients attending the major treatment centres in the Russian Southern Federal District. These data complement previous reports conducted in different Russian regions and with different epidemiological parameters [2,4,25]. The limited number of patients and the predominance of older patients in this study compared to others from West/Central Europe and North America (<http://www.cdc.gov/hiv/library/reports/hiv-surveillance.html>) is attributable to the high HIV unawareness and reduced accessibility to HIV care in Russia.

In Russia compared to western countries, HIV-1 epidemiology differs in several aspects. First, females are a vulnerable collective in Russia. Moreover, we show that the female proportion of HIV patients in medical care has not significantly decreased over the years in the Southern Federal District. In addition, PWID and heterosexual contacts are the main reported transmission modes in Russia [25], while in western countries, the impact of these two transmission modes is limited. In West/Central Europe and North America, MSM is the most affected group, both in cumulative incidence and new infections, and these infections correlate with subtype B [1]. In Eastern Europe and Central Asia, MSM represent only 6% of new infections, though they also correlate with this subtype [3,26]. Specifically, in Southern Russia less than 3% of the patients reported to be MSM and this transmission route also correlated with subtype B viruses. Yet, 25% of our samples with unknown transmission route were classified as subtype B, suggesting that they may indeed represent cases of withheld MSM transmission. Underrepresentation of MSM in epidemiological analyses is indeed expected as marked social discrimination complicates their enrolment in clinical studies and, upon inclusion, some of them may report a different transmission route, mostly heterosexual [2,3,26].

One of the major technical problems for Russian epidemiology analysis is the accurate subtyping of isolates. This is a key issue for sub-subtype A6, the most prevalent in FSU countries, but also for other CRFs such as 63\_02A, which comprises 10.3% of the FSU sequences deposited in GenBank. These isolates cannot be identified by current bioinformatics subtyping tools. Therefore, our initial efforts were directed to develop a methodology to systematise its identification and subsequent annotation in Los Alamos and GenBank databases. The use of the A6\_pol\_reference consensus sequence allows for a clear discrimination between A6 and A1 samples based on the *pol* nucleotide sequence. Our data

do not support EF545108 and EU861977 as reference sequences, in spite of their use in a number of previous studies [7,12–15], as they cluster between African A1 and A6 sequences, suggesting that they are actually ancestors of the presently circulating A6 sub-subtype [14]. The subsequent analysis of A6 prevalence in our data set showed a large predominance of this sub-subtype, similar to what is described for other regions in the country. The initial expansion of this sub-subtype took place in PWID networks [3], but now it has extended to all other collectives. The A6 identification methodology developed in this work has been transferred to the geno2pheno system team who are already working to extend the subtyping tool. In the near future, the use of free-access, web-based subtyping tool(s) will enable not only the effortless and straightforward identification of A6 isolates in routine diagnostics, but also the characterisation of their prevalence worldwide. Of note, 4% of the A6-annotated entries in the Los Alamos database are isolates from countries geographically close to the FSU such as Mongolia, Germany, and Turkey, but also from more distant countries like Cyprus, Spain, The Republic of Korea, U.S.A., and Australia (Table S7). We acknowledge the limitation that our analyses were based only on the *pol* region. This region was prioritized because it is the main genomic region analysed in routine diagnostics for subtyping as well as for drug resistance testing. Current experiments in our group are investigating other genomic regions such as the *IN* gene or the V3 loop of the gp120 subunit of the Env protein to further optimize and facilitate the detection of A6 isolates. In addition, the methodology developed in this work can also be extended to normalise the classification of other relevant subtypes/CRFs not yet detected through subtyping tools.

Exceptional within HIV Russian epidemiology is the large prevalence of subtype G in the Southern Federal District [3,15]. Subtype G strains are otherwise mostly reported from Nigeria and West African countries [27,28] (Table S8). They are rare in western countries, with the exceptions of Spain and Portugal, where they account for up to 12% and 30% of the infections, respectively [29–32]. In Russia, subtype G infections are unusual outside the region covered in this study [33]. The subtype G viruses from the Southern Federal District can be retraced to an episode of clonal infection of more than 250 children after exposure to non-sterile needles in 1988–1989 [3,19]. This event still shapes the current HIV landscape, with subtype G prevalence of 23% of the isolates detected in this study. Almost-full genome analyses of three isolates from the nosocomially-infected cohort showed genetic similarity to African G isolates and dissimilarity to eight G viruses from other Russian regions, which were related to G/CRF14\_BG isolates from the Iberian zone [19]. Importantly and contrary to the African and South European cases where subtype G viruses are currently being actively transmitted among the population by heterosexual contacts, this study could not detect any subtype G sample outside this nosocomially infected group, suggesting that these viruses may not have entered other transmission networks yet.

Non-B subtypes show differences in disease progression (summarised in [34]) and present genetic signatures and polymorphisms in amino acid residues associated to resistance in subtype B. Subtypes C, F, G, or CRF02\_AG show different susceptibility to specific antiretrovirals and may develop RAMs, which are not favoured in subtype B strains [35,36]. Our analysis detected two specific RAMs significantly associated to A6 viruses: A62V<sub>RT</sub> and G190S<sub>RT</sub>. In subtype B, A62V<sub>RT</sub> is a compensatory mutation associated with NRTI-class resistance. A62V<sub>RT</sub> is observed in two unusual mutational patterns: the Q151M complex and the T69SSS insertion complex. The A62V<sub>RT</sub> alone is rare in subtype B, TN-samples as it reduces the replication capacity of these variants to 50% compared to the wild type (wt) virus [37]. In A6 samples, A62V<sub>RT</sub> is an endemic polymorphism with similarly high prevalence among TN and TE patients [9,38,39]. These prevalence trends strongly suggest that this mutation probably does not lead to a sharp reduction of replication capacity in the context of sub-subtype A6, though no experimental data to confirm this hypothesis are available yet. What is more, it opens the question of whether NRTI class-resistance patterns may be favoured in the A6 context. The limited size of our dataset hinders any conclusion in this direction. The substitution G190S<sub>RT</sub> confers high level resistance against doravirine, efavirenz, and nevirapine and reduces etravirine and rilpivirine susceptibility to levels of still unknown clinical relevance [24]. In non-A6 isolates,

K103N<sub>RT</sub> or Y181C<sub>RT</sub> are preferentially detected after efavirenz exposure [40–43] while G190S<sub>RT</sub> is rarely observed, probably due to high costs in replication capacity (in the subtype B context, 20% compared to the wt) [41]. Conversely, G190S development in A6 isolates is significantly higher (up to 30% to 60%) after EFV and/or nevirapine (NVP)-exposure and is favoured over the K103N and Y181C resistance pathways [10,38,39,42–44]. These subtype differences may be partially attributable to the nucleotide exchanges required to achieve the amino acid substitution: While one transition and one transversion (GGA to TCA or AGY) are required in non-A6 isolates, only one transition is required (GGC to AGC) in the A6 genetic background [42]. The effect of G190S<sub>RT</sub> in replication capacity of A6 isolates is yet to be analysed.

Single class- and multiresistance to all antiretroviral drug classes available in Russia were detected in the present study, threatening the long-term success of antiretroviral therapy programs. In South Russian therapy-experienced patients, resistance levels are comparable to those described for TE, viraemic patients in western countries [45–47]. Whether the prevalence of drug resistance in Russia is currently declining, as described for Western Europe and the U.S.A. [45,46] is still unknown. Our study included too few samples from recent years to drive any conclusion in this matter. Further studies including additional samples from the last decade are required to clarify this question. We also identified transmission of drug resistance. PI-, NRTI-, and even PI + NRTI-resistant strains were detected in TN patients. PI-TDR in South Russia, detected in 9% of the TN patients, seems to be higher than in other European countries [45,48–50], which may be a consequence of the extended use of older PIs such as atazanavir, nelfinavir, or saquinavir compared to western countries, where these drugs have been mostly replaced by darunavir.

In conclusion, this study enables the systematisation of A6 identification and confirms the predominance of sub-subtype A6 and subtype G in Southern Russia. Additionally, it shows that resistance is circulating in viruses from both TN and TE patients, with the presence of specific RAMs associated to individual subtypes. Efforts to increase the implementation of routine epidemiology and surveillance will further improve therapy efficacy in this region.

**Supplementary Materials:** The following are available online at <http://www.mdpi.com/1999-4915/12/4/475/s1>, Figure S1: Distribution of the pairwise genetic distances between the A6<sub>pol</sub> reference consensus and the A6 samples, Figure S2: NJ tree of A6<sub>pol</sub> reference consensus and HIV-1 subtype reference sequences, Table S1: GenBank accession numbers for the reference sequences, Table S2: Overview of the datasets used in this study, Table S3: Sex distribution based on the year of birth, Table S4: Pairwise distances between A6<sub>pol</sub> reference consensus and the REF-LA dataset, Table S5: HIV-1 subtype and CRF prevalence in GenBank and our Southern Russia samples, Table S6: Number of RAMs per sequence according drug class, Table S7: Country of origin of HIV-1 sequences (any genomic region) annotated as subclade A6 in the Los Alamos database, Table S8: Country of origin of HIV-1 sequences (any genomic region) annotated as subtype G in the Los Alamos database. File S1: GenBank accession numbers of sequences included in A6-POL-LA dataset.

**Author Contributions:** Conceptualization, V.V.K., A.S. (Andrey Shemshura), R.K., and S.S. (Saleta Sierra); Data Curation, E.H., E.K., and V.D.C.; Formal analysis, M.S. and S.S. (Saleta Sierra); Funding acquisition, R.K.; Investigation, M.S., V.V.K., V.H.M., A.S. (Andrey Shemshura), and K.H.; Methodology, M.S. and K.H.; Project administration, S.S. (Saleta Sierra); Resources, V.V.K., A.S. (Andrey Shemshura), S.S. (Sergey Saukhat), D.K., A.S. (Alexandr Suladze), and T.T.; Software, M.B. (Michael Böhm); Supervision, S.S. (Saleta Sierra); Validation, E.H., E.K., V.D.C., and R.K.; Visualization, M.S. and S.S. (Saleta Sierra); Writing – original draft, M.S. and S.S. (Saleta Sierra); Writing – review and editing, V.V.K., A.S. (Anders Sönnerborg), M.Z., M.B. (Marina Bobkova), and S.S. (Saleta Sierra). All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

**Funding:** This research received funding from the HIV/HEP Master Project from the German Federal Ministry of Health (Bundesministerium für Gesundheit) [IIA5-2013-2514-AUK375], the EuResist project from the European Commission [IST-2004-027173], and the CARE project from the European Union’s Horizon 2020 research and innovation program under grant agreement No 825673. The funders had no role in the study design, data collection and interpretation, or decision to submit the work for publication.

**Acknowledgments:** The authors thank Irina Fish, Mara Soldato, Lisa Hüsgen, and Heike Kulartz for invaluable help with sample preparation.

**Conflicts of Interest:** The authors declare no potential conflict of interest. The funders had no role in the design of the study; in the collection, analyses or interpretation of the data; in the writing of the manuscript, or in the decision to publish the results. R.K. received speaker’s honoraria and travel support from Gilead Sciences, Roche, MSD, ViiV Healthcare, and Janssen-Cilag. A.S. received speaker’s honoraria and travel support from

Gilead Sciences and ViiV Healthcare. M.Z. received speaker's honoraria and travel support from Gilead Sciences, Janssen-Cilag, and ViiV Healthcare.

## References

- UNAIDS DATA 2019. Available online: [https://www.unaids.org/sites/default/files/media\\_asset/2019-UNAIDS-data\\_en.pdf](https://www.unaids.org/sites/default/files/media_asset/2019-UNAIDS-data_en.pdf) (accessed on 2 February 2019).
- Beyrer, C.; Wirtz, A.L.; O'Hara, G.; Leon, N.; Kazatchkine, M. The expanding epidemic of HIV-1 in the Russian Federation. *PLoS Med.* **2017**, *14*, e1002462. [[CrossRef](#)]
- Bobkova, M. Current status of HIV-1 diversity and drug resistance monitoring in the former USSR. *AIDS Rev.* **2013**, *15*, 204–212. [[PubMed](#)]
- GBD 2017 HIV collaborators. Global, regional, and national incidence, prevalence, and mortality of HIV, 1980–2017, and forecasts to 2030, for 195 countries and territories: A systematic analysis for the Global Burden of Diseases, Injuries, and Risk Factors Study 2017. *Lancet HIV* **2019**, *6*, e831–e859. [[CrossRef](#)]
- Diez-Fuertes, F.; Cabello, M.; Thomson, M.M. Bayesian phylogeographic analyses clarify the origin of the HIV-1 subtype A variant circulating in former Soviet Union's countries. *Infect Genet. Evol.* **2015**, *33*, 197–205. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Novitsky, V.A.; Montano, M.A.; Essex, M. Molecular epidemiology of an HIV-1 subtype A subcluster among injection drug users in the Southern Ukraine. *AIDS Res. Hum. Retrovir.* **1998**, *14*, 1079–1085. [[CrossRef](#)]
- Thomson, M.M.; de Parga, E.V.; Vinogradova, A.; Sierra, M.; Yakovlev, A.; Rakhmanova, A.; Delgado, E.; Casado, G.; Munoz, M.; Carmona, R.; et al. New insights into the origin of the HIV type 1 subtype A epidemic in former Soviet Union's countries derived from sequence analyses of preepidemically transmitted viruses. *AIDS Res. Hum. Retrovir.* **2007**, *23*, 1599–1604. [[CrossRef](#)]
- Bobkov, A.; Cheingsong-Popov, R.; Selimova, L.; Ladnaya, N.; Kazennova, E.; Kravchenko, A.; Fedotov, E.; Saukhat, S.; Zverev, S.; Pokrovsky, V.; et al. An HIV type 1 epidemic among injecting drug users in the former Soviet Union caused by a homogeneous subtype a strain. *AIDS Res. Hum. Retrovir.* **1997**, *13*, 1195–1201. [[CrossRef](#)]
- Rumyantseva, O.A.; Olkhovskiy, I.A.; Malysheva, M.A.; Ruzaeva, L.A.; Vasiliev, A.V.; Kazennova, E.V.; Bobkova, M.R.; Lukashov, V.V. Epidemiological networks and drug resistance of HIV type 1 in Krasnoyarsk region, Russia. *AIDS Res. Hum. Retrovir.* **2009**, *25*, 931–936. [[CrossRef](#)]
- Karkashadze, E.; Dvali, N.; Bolokadze, N.; Sharvadze, L.; Gabunia, P.; Karchava, M.; Tchelidze, T.; Tsertsvadze, T.; DeHovitz, J.; Del Rio, C.; et al. Epidemiology of human immunodeficiency virus (HIV) drug resistance in HIV patients with virologic failure of first-line therapy in the country of Georgia. *J. Med. Virol.* **2019**, *91*, 235–240. [[CrossRef](#)]
- Foley, B.T.; Leitner, T.; Paraskevis, D.; Peeters, M. Primate immunodeficiency virus classification and nomenclature: Review. *Infect Genet. Evol.* **2016**, *46*, 150–158. [[CrossRef](#)]
- Masharsky, A.E.; Klimov, N.A.; Kozlov, A.P. Molecular cloning and analysis of full-length genome of HIV type 1 strains prevalent in countries of the former Soviet Union. *AIDS Res. Hum. Retrovir.* **2003**, *19*, 933–939. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Lapovok, I.; Laga, V.; Kazennova, E.; Bobkova, M. HIV Type 1 Integrase Natural Polymorphisms in Viral Variants Circulating in FSU Countries. *Curr. HIV Res.* **2017**, *15*, 318–326. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- 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 Res. Hum. Retrovir.* **2008**, *24*, 1319–1325. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Lapovok, I.A.; Lopatukhin, A.E.; Kireev, D.E.; Kazennova, E.V.; Lebedev, A.V.; Bobkova, M.R.; Kolomeets, A.N.; Turbina, G.I.; Shipulin, G.A.; Ladnaya, N.N.; et al. Molecular epidemiological analysis of HIV-1 variants circulating in Russia in 1987–2015. *Ter. Arkh.* **2017**, *89*, 44–49. [[CrossRef](#)]
- Pokrovskii, V.V.; Eramova, I.; Deulina, M.O.; Lipetkov, V.V.; Iashkulov, K.B.; Sliusareva, L.A.; Chemizova, N.M.; Savchenko, S.P. An intrahospital outbreak of HIV infection in Elista. *Zhurnal Mikrobiol. Epidemiol. Immunobiol.* **1990**, 17–23.
- Bobkov, A.; Cheingsong-Popov, R.; Garaev, M.; Rzhanchinova, A.; Kaleebu, P.; Beddows, S.; Bachmann, M.H.; Mullins, J.I.; Louwagie, J.; Janssens, W.; et al. Identification of an env G subtype and heterogeneity of HIV-1 strains in the Russian Federation and Belarus. *AIDS* **1994**, *8*, 1649–1655. [[CrossRef](#)]

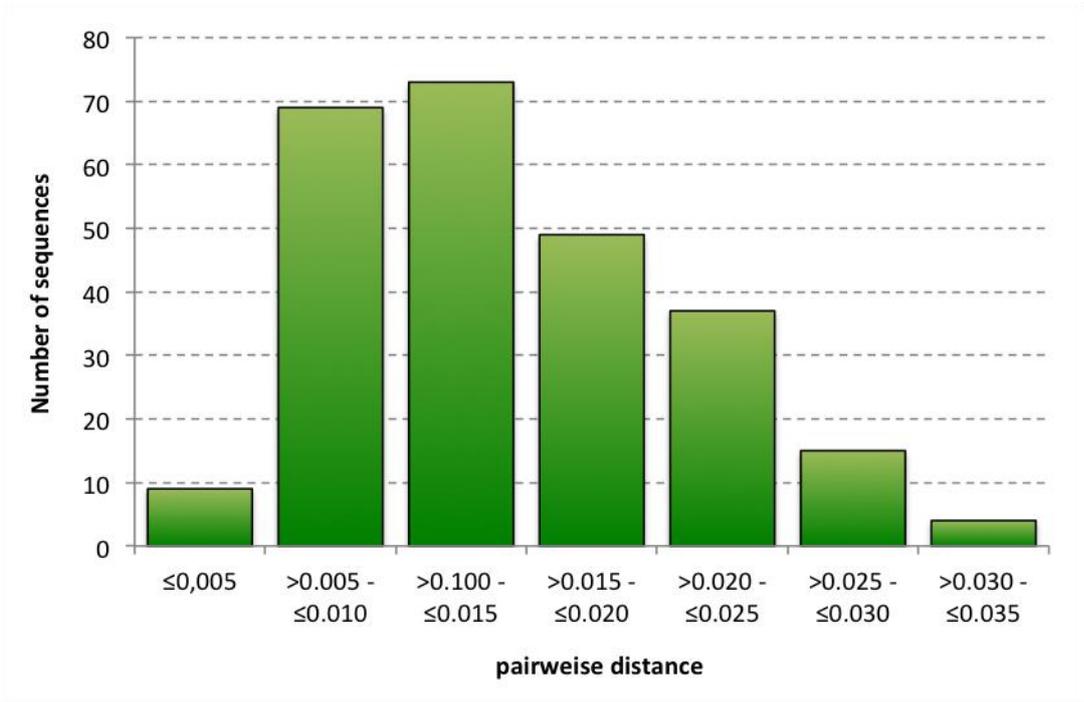
18. Bobkov, A.; Garaev, M.M.; Rzhaniyeva, A.; Kaleebu, P.; Pitman, R.; Weber, J.N.; Cheingsong-Popov, R. Molecular epidemiology of HIV-1 in the former Soviet Union: Analysis of env V3 sequences and their correlation with epidemiologic data. *AIDS* **1994**, *8*, 619–624. [[CrossRef](#)]
19. Murzakova, A.; Kireev, D.; Baryshev, P.; Lopatukhin, A.; Serova, E.; Shemshura, A.; Saukhat, S.; Kolpakov, D.; Matuzkova, A.; Suladze, A.; et al. Molecular Epidemiology of HIV-1 Subtype G in the Russian Federation. *Viruses* **2019**, *11*, 348. [[CrossRef](#)]
20. Sierra, S.; Kaiser, R.; Lubke, N.; Thielen, A.; Schuelter, E.; Heger, E.; Daumer, M.; Reuter, S.; Esser, S.; Fatkenheuer, G.; et al. Prediction of HIV-1 coreceptor usage (tropism) by sequence analysis using a genotypic approach. *J. Vis. Exp.* **2011**, *58*, e3264. [[CrossRef](#)]
21. Leitner, T.; Korber, B.; Daniels, M.; Calef, C.; Foley, B. HIV-1 Subtype and Circulating Recombinant Form (CRF) Reference Sequences. *HIV Seq. Compend.* **2005**, *2005*, 41–48.
22. Kumar, S.; Stecher, G.; Tamura, K. MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 7.0 for Bigger Datasets. *Mol. Biol. Evol.* **2016**, *33*, 1870–1874. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
23. Edgar, R.C. MUSCLE: Multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput. *Nucleic Acids Res.* **2004**, *32*, 1792–1797. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
24. Liu, T.F.; Shafer, R.W. Web Resources for HIV type 1 Genotypic-Resistance Test Interpretation. *Clin. Infect. Dis.* **2006**, *42*, 1608–1618. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
25. Aibekova, L.; Foley, B.; Hortelano, G.; Raees, M.; Abdramimov, S.; Toichuev, R.; Ali, S. Molecular epidemiology of HIV-1 subtype A in former Soviet Union countries. *PLoS ONE* **2018**, *13*, e0191891. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
26. Kazennova, 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 Men Who Have Sex with Men in Russia. *AIDS Res. Hum. Retrovir.* **2017**, *33*, 1061–1064. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
27. Foley, B.; Leitner, T.; Apetrei, C.; Hahn, B.; Mizrachi, I.; Mullins, J.; Rambaut, A.; Wolinsky, S.; Korber, B. *HIV Sequence Compendium 2018*; Theoretical Biology and Biophysics Group T-6, Los Alamos National Laboratory: New Mexico, NM, USA, 2018.
28. Miri, L.; Wakrim, L.; Kassar, H.; Hemminki, K.; Khyatti, M. Impact of immigration on HIV-1 molecular epidemiology in West Africa, Maghreb and Southern Europe. *AIDS Rev.* **2014**, *16*, 109–116.
29. Perez-Parra, S.; Chueca, N.; Alvarez, M.; Pasquau, J.; Omar, M.; Collado, A.; Vinuesa, D.; Lozano, A.B.; Yebra, G.; Garcia, F. High prevalence and diversity of HIV-1 non-B genetic forms due to immigration in southern Spain: A phylogeographic approach. *PLoS ONE* **2017**, *12*, e0186928. [[CrossRef](#)]
30. Pineda-Peña, A.C.; Pingarilho, M.; Li, G.; Vrancken, B.; Libin, P.; Gomes, P.; Camacho, R.J.; Theys, K.; Barroso Abecasis, A.; Portuguese, H.I.V.R.S.G. Drivers of HIV-1 transmission: The Portuguese case. *PLoS ONE* **2019**, *14*, e0218226. [[CrossRef](#)]
31. Heipertz, R.A., Jr.; Ayemoba, O.; Sanders-Buell, E.; Poltavee, K.; Pham, P.; Kijak, G.H.; Lei, E.; Bose, M.; Howell, S.; O'Sullivan, A.M.; et al. Significant contribution of subtype G to HIV-1 genetic complexity in Nigeria identified by a newly developed subtyping assay specific for subtype G and CRF02\_AG. *Medicine (Baltimore)* **2016**, *95*, e4346. [[CrossRef](#)]
32. Gonzalez-Alba, J.M.; Holguin, A.; Garcia, R.; Garcia-Bujalance, S.; Alonso, R.; Suarez, A.; Delgado, R.; Cardenoso, L.; Gonzalez, R.; Garcia-Bermejo, I.; et al. Molecular surveillance of HIV-1 in Madrid, Spain: A phylogeographic analysis. *J. Virol.* **2011**, *85*, 10755–10763. [[CrossRef](#)]
33. Karamov, E.; Epremyan, K.; Siniavin, A.; Zhernov, Y.; Cuevas, M.T.; Delgado, E.; Sanchez-Martinez, M.; Carrera, C.; Kornilaeva, G.; Turgiev, A.; et al. HIV-1 Genetic Diversity in Recently Diagnosed Infections in Moscow: Predominance of AFSU, Frequent Branching in Clusters, and Circulation of the Iberian Subtype G Variant. *AIDS Res. Hum. Retrovir.* **2018**, *34*, 629–634. [[CrossRef](#)]
34. Sarabia, I.; Bosque, A. HIV-1 Latency and Latency Reversal: Does Subtype Matter? *Viruses* **2019**, *11*, 1104. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
35. Daumer, M.; Awerkiew, S.; Aragon, S.S.; Kartashev, V.; Poplavskaja, T.; Klein, R.; Sichtig, N.; Thiele, B.; Lengauer, T.; Roomp, K.; et al. Short communication: Selection of thymidine analogue resistance mutational patterns in children infected from a common HIV type 1 subtype G source. *AIDS Res. Hum. Retrovir.* **2010**, *26*, 275–278. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
36. Wainberg, M.A.; Brenner, B.G. Role of HIV Subtype Diversity in the Development of Resistance to Antiviral Drugs. *Viruses* **2010**, *2*, 2493–2508. [[CrossRef](#)]

37. Maldonado, J.O.; Mansky, L.M. The HIV-1 Reverse Transcriptase A62V Mutation Influences Replication Fidelity and Viral Fitness in the Context of Multi-Drug-Resistant Mutations. *Viruses* **2018**, *10*. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
38. Dvali, N.; Parker, M.M.; Chkhartishvili, N.; Sharvadze, L.; Gochitashvili, N.; Abutidze, A.; Karchava, M.; DeHovitz, J.A.; Tsertsvadze, T. Characterization of HIV-1 subtypes and drug resistance mutations among individuals infected with HIV in Georgia. *J. Med. Virol.* **2012**, *84*, 1002–1008. [[CrossRef](#)]
39. Kolomeets, A.N.; Varghese, V.; Lemey, P.; Bobkova, M.R.; Shafer, R.W. A uniquely prevalent nonnucleoside reverse transcriptase inhibitor resistance mutation in Russian subtype A HIV-1 viruses. *AIDS* **2014**, *28*, F1–F8. [[CrossRef](#)]
40. Bachelier, L.T.; Anton, E.D.; Kudish, P.; Baker, D.; Bunville, J.; Krakowski, K.; Bolling, L.; Aujay, M.; Wang, X.V.; Ellis, D.; et al. Human immunodeficiency virus type 1 mutations selected in patients failing efavirenz combination therapy. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2000**, *44*, 2475–2484. [[CrossRef](#)]
41. Huang, W.; Gamarnik, A.; Limoli, K.; Petropoulos, C.J.; Whitcomb, J.M. Amino acid substitutions at position 190 of human immunodeficiency virus type 1 reverse transcriptase increase susceptibility to delavirdine and impair virus replication. *J. Virol.* **2003**, *77*, 1512–1523. [[CrossRef](#)]
42. Brenner, B.G. Selective acquisition of G190S in HIV-1 subtype A from Russia leading to efavirenz and nevirapine treatment failure. *AIDS* **2014**, *28*, 2619–2621. [[CrossRef](#)]
43. Avidor, B.; Turner, D.; Mor, Z.; Chalom, S.; Riesenberg, K.; Shahar, E.; Pollack, S.; Elbirt, D.; Stoeber, Z.; Maayan, S.; et al. Transmission patterns of HIV-subtypes A/AE versus B: Inferring risk-behavior trends and treatment-efficacy limitations from viral genotypic data obtained prior to and during antiretroviral therapy. *PLoS ONE* **2013**, *8*, e57789. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
44. Dvali, N.; Chkhartishvili, N.; Karchava, M.; Sharvadze, L.; Tsertsvadze, T. Distinct drug resistance profile of HIV-1 subtype A strain circulating in Georgia. *Georgian Med. News* **2015**, 19–24.
45. Davy-Mendez, T.; Eron, J.J.; Brunet, L.; Zakharova, O.; Dennis, A.M.; Napravnik, S. New antiretroviral agent use affects prevalence of HIV drug resistance in clinical care populations. *AIDS* **2018**, *32*, 2593–2603. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
46. Schultze, A.; Phillips, A.N.; Paredes, R.; Battegay, M.; Rockstroh, J.K.; Machala, L.; Tomazic, J.; Girard, P.M.; Januskevica, I.; Gronborg-Laut, K.; et al. HIV resistance testing and detected drug resistance in Europe. *AIDS* **2015**, *29*, 1379–1389. [[CrossRef](#)]
47. Knops, E.; Schuüter, E.; Luübke, N.; Oette, M.; Faätkenheuer, G.; Hower, M.; Knechten, H.; Mutz, A.; Esser, S.; Scholten, S.; et al. The RESINA data support the individualized therapy based on primary resistance testing. *Eur. Resist. Abstr.* **67** **2015**, *2015*, 66–67.
48. Franzetti, M.; De Luca, A.; Ceccherini-Silberstein, F.; Spagnuolo, V.; Nicastrì, E.; Mussini, C.; Antinori, A.; Monno, L.; Vecchiet, J.; Fanti, I.; et al. Evolution of HIV-1 transmitted drug resistance in Italy in the 2007–2014 period: A weighted analysis. *J. Clin. Virol.* **2018**, *106*, 49–52. [[CrossRef](#)]
49. Hauser, A.; Hofmann, A.; Hanke, K.; Bremer, V.; Bartmeyer, B.; Kuecherer, C.; Bannert, N. National molecular surveillance of recently acquired HIV infections in Germany, 2013 to 2014. *Euro Surveill* **2017**, *22*, 30436. [[CrossRef](#)]
50. Rossetti, B.; Di Giambenedetto, S.; Torti, C.; Postorino, M.C.; Punzi, G.; Saladini, F.; Gennari, W.; Borghi, V.; Monno, L.; Pignataro, A.R.; et al. Evolution of transmitted HIV-1 drug resistance and viral subtypes circulation in Italy from 2006 to 2016. *HIV Med.* **2018**, *19*, 619–628. [[CrossRef](#)]

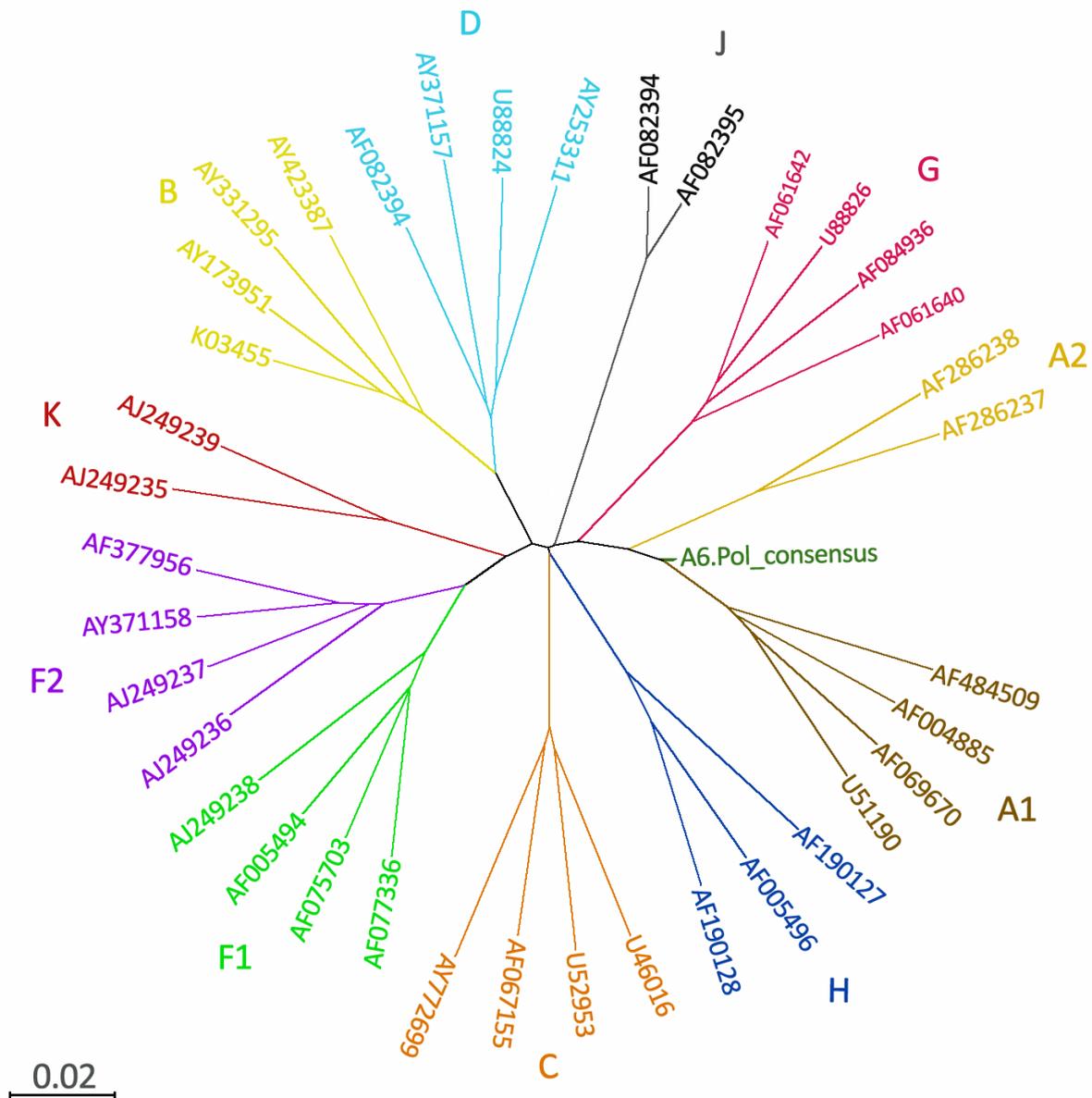


© 2020 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

3.2 Zusatzmaterial



Supplementary Fig. S1: distribution of the pairwise genetic distance between A6\_pol\_reference consensus and the A6 samples



Supplementary Fig. S2: NJ tree of A6\_pol\_reference consensus and HIV-1 subtype reference sequences

**GenBank accession numbers of sequences included in A6-POL-LA dataset**

AF193275, AF413987, AY500393, AY829203, AY829205, AY829206, AY829208, AY829209, AY829210, AY829211, AY829212, DQ207944, DQ823356, DQ823357, DQ823358, DQ823359, DQ823360, DQ823361, DQ823365, DQ823366, DQ823367, EF589039, EF589040, EF589041, EF589042, EF589043, EF589044, FJ388892, FJ388906, FJ388950, FJ388951, FJ864679, JF683763, JF683780, JF683798, JQ292891, JQ292892, JQ292893, JQ292894, JQ292895, JQ292896, JQ292897, JQ292898, JQ292899, JQ292900, JX500694, JX500695, JX500696, KF716491, KF716492, KT983615, KU749399, KU749400, KU749401, KU749403, KU749404, KU749405, KU749407, KY238326, KY238327, KY238328, KY658681, KY658682, MF109697, MG902950, MG902951, EF545108, EU861977

### A6\_pol\_reference consensus sequence

CCTCAAATCACTCTTTGGCAACGACCCCTTGTCACAATAAAAAATAGGAGGACAGCTAAAAGAAGCTCTATTAGAT  
ACAGGAGCAGATGATACAGTATTAGAAGAMATAAATTTGCCAGGAAAATGGAAACCAAAAATGATAGGGGGAATT  
GGRGGTTTTATYAAAGTAARACAGTATGATCAGATAMTTATAGAAAATTTGTGGAAAAAAGGCTATAGGTWCAGTA  
TTAGTAGGRCCTACCCCTGTCAACATAATTGGAAGAAATATGTTGACTCARCTTGGTTGTACTTTAAATTTTCCA  
ATAAGTCCTATTGAAACTGTACCAGTAAMATTAAGCCAGGAATGGATGGCCCAAAGGTTAAACAATGGCCATTA  
ACAGAAGAAAAAATAAAGCATTAAACAGAMATTTGTAAGGARATGGAAAAGGAAGGAAAAATTTCAAAAATTTGGG  
CCTGAAAATCCATAACAATACTCCARTATTTGCTATAAAGAAAAARGACAGCACTAAGTGGAGGAAATTAGTAGAT  
TTCAGGGARCTYAATAAAAARAAMTCAGGACTTTTGGGAAGTTCAATTAGGAATACCCCATCCAGCGGGTTAAAA  
AARAAAAAATCAGTAACAGTACTWGATGTGGGGGATGCATATTTTTTCAGTTCCYTTAGATGAAARCTTCAGAAAG  
TATACTGCATTCACTATAACCAAGTATAAACAATGAGAMACCAGGGRTCAGRTATCARTACAATGTACTTCCACAG  
GGATGGAAAGGATCACCAACAATATTCCAGRGTAGCATGACAAAAATCTTAGAGCCCTTTAGATYAAAAAATCCA  
GAAATAGTTATCTATCAATACATGGATGACTTGTATGTAGGCTCTGATTTAGAAAATAGGGCAACATAGARCAAAA  
ATAGARGAGTTAAGARCTCATCTATTGAGCTGGGGATTTACTACACCAGACAAAAAGCATCARAAAAGAACCTCCA  
TTTCTTTGGATGGGRTATGAACTCCATCCTGACAAATGGACAGTCCAGCCTATARWGCTRCCARATAAAGACAGC  
TGGACTGTCAATGATATACAGAAATTAGTGGGAAAACATAAATTTGGGCAAGTCARATTTATCCAGGGATTAAAGTA  
AAGCAATTGTGTAAACTCCTCAGGGGARCCAAAGCACTGACAGATATAGTGACACTGACTGAGGAAGCAGAATTA  
GAATTGGCAGAGAACAGRGAGATTCTAAAAGAACCTGTGCATGGRGTATATTATGACCCATCAAAAAGATTAGTA  
GCAGAAATACAGAAACAAGGACAAGACGTAGGAGCAGAGACTTTCTC

Subtype	GenBank accession number
A1	AF004885
A1	AF069670
A1	U51190
A1	AF484509
A2	AF286238
A2	AF286237
B	K03455
B	AY173951
B	AY423387
B	AY331295
C	U46016
C	U52953
C	AF067155
C	AY772699
D	K03454
D	U88824
D	AY371157
D	AY253311
F1	AF005494
F1	AF077336
F1	AF075703
F1	AJ249238
F2	AJ249236
F2	AJ249237
F2	AY371158
F2	AF377956
G	AF061642
G	AF061640
G	AF084936
G	U88826
H	AF005496
H	AF190127
H	AF190128
J	AF082394
J	AF082395
K	AJ249235
K	AJ249239
CRF 01_AE	U54771
CRF 02_AG	L39106
CRF 03_AB	AF193276

**Supplementary Table S1: GenBank accession numbers for the reference sequences (REF-LA dataset)**

Dataset name	No. of sequences	Samples origin	genomic region	HIV-1 subtype
RUS	222	patients from Southern Russia	p51 (RT)	A1, CRF01_AE, CRF02_AG, CRF03_AE*
RUS-A6	211	patients from Southern Russia	p51 (RT)	A6
A6-POL-LA	68	LA (FSU countries)	p51 (RT)	A6
REF-LA	37	LA (worldwide)	full genome	all
FSU-LA	12510	LA (FSU countries)	any	all
RU-LA	8388	LA (Russia)	any	all
A6-WORLD-LA	9242	LA (worldwide)	any	A6

### Supplementary Table S2: Overview of the datasets used in this study

LA: Los Alamos database; FSU: former Soviet Union; \*initial subtyping before phylogenetic analysis

year of birth	male	female
1948-1960	3 (27.3%)	8 (72.7%)
1961-1970	25 (53.2%)	22 (46.8%)
1971-1980	49 (61.3%)	31 (38.8%)
1981-1990	49 (51.0%)	47 (49.0%)
1991-2000	7 (58.3%)	5 (41.7%)
2001-2011	16 (64.0%)	9 (36.0%)
<b>Total</b>	<b>149</b>	<b>122</b>

### Supplementary Table S3: Sex distribution based on the year of birth

Subtype	median distance (IQR)	max. distance	min. distance
A1	0.057 (0.053-0.059)	0.066	0.050
A2	0.081 (0.080-0.081)	0.082	0.079
B	0.095 (0.093-0.097)	0.098	0.091
C	0.095 (0.095-0.096)	0.098	0.093
D	0.100 (0.098-0.102)	0.102	0.098
F1	0.092 (0.088-0.095)	0.098	0.087
F2	0.094 (0.093-0.094)	0.096	0.092
G	0.098 (0.092-0.104)	0.105	0.092
H	0.099 (0.095-0.105)	0.109	0.088
J	0.114 (0.114-0.114)	0.114	0.114
K	0.079 (0.078-0.088)	0.096	0.079

### Supplementary Table S4: Pairwise distances between A6\_pol\_reference consensus and the REF-LA dataset

Subtype <sup>a</sup>	FSU-LA dataset		RU-LA dataset		Southern Russia PR/RT (n=303)
	any region (n=12510)	p51 <sup>b</sup> (n=164)	any region (n=8388)	P51 (n=102) <sup>c</sup>	
A	828 (6.6%)	0 (0.0%)	527 (6.3%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)
A1	19 (0.2%)	0 (0.0%)	15 (0.2%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)
A6	7962 (63.6%)	110 (67.1%)	5690 (67.8%)	63 (61.8%)	211 (69.6%)
B	767 (6.1%)	11 (6.7%)	579 (6.9%)	7 (6.9%)	10 (3.3%)
C	72 (0.6%)	1 (0.6%)	57 (0.7%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)
D	5 (0.0%)	0 (0.0%)	2 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)
F	2 (0.0%)	0 (0.0%)	2 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)
F1	14 (0.1%)	0 (0.0%)	14 (0.2%)	1 (1.0%)	0 (0.0%)
F2	1 (0.0%)	0 (0.0%)	1 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)
<b>G</b>	<b>395 (3.2%)</b>	<b>2 (1.2%)</b>	<b>388 (4.6%)</b>	<b>4 (3.9%)</b>	<b>71 (23.4%)</b>
H	5 (0.0%)	0 (0.0%)	5 (0.1%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)
CRF01_AE	14 (0.1%)	0 (0.0%)	14 (0.2%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)
CRF02_AG	421 (3.4%)	0 (0.0%)	31 (0.4%)	0 (0.0%)	8 (2.6%)
CRF03_AB	295 (2.4%)	5 (3.0%)	227 (2.7%)	2 (2.0%)	3 (1.0%)
CRF06_cpx	21 (0.2%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	1 (1.0%)	0 (0.0%)
CRF07_BC	2 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)
CRF11_cpx	2 (0.0%)	0 (0.0%)	2 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)
CRF18_cpx	1 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)
CFR30_02A6	258 (2.1%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	5 (4.9%)	0 (0.0%)
CRF32_06A6	7 (0.1%)	1 (0.6%)	7 (0.1%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)
CRF35_AD	1 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)
CRF43_02G	1 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)
<b>CRF63_02A</b>	<b>1294 (10.3%)</b>	<b>29 (17.7%)</b>	<b>740 (8.8%)</b>	<b>11 (10.8%)</b>	<b>0 (0.0%)</b>
O1G	1 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)
O263	8 (0.1%)	0 (0.0%)	2 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)
O2A1	1 (0.0%)	0 (0.0%)	1 (0.0%)	1 (1.0%)	0 (0.0%)
O2B	1 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)
O2F2	1 (0.0%)	0 (0.0%)	1 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)
O3A6	1 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)
63A6	28 (0.2%)	0 (0.0%)	16 (0.2%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)
A1A6	2 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)
A1B	5 (0.0%)	0 (0.0%)	1 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)
A1BG	2 (0.0%)	0 (0.0%)	2 (0.0%)	2 (2.0%)	0 (0.0%)
A6B	40 (0.3%)	0 (0.0%)	35 (0.4%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)
A6G	3 (0.0%)	0 (0.0%)	3 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)
AB	15 (0.1%)	0 (0.0%)	14 (0.2%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)
AD	3 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)
BG	5 (0.0%)	5 (3.0%)	5 (0.1%)	5 (4.9%)	0 (0.0%)
DG	5 (0.0%)	0 (0.0%)	5 (0.1%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)
FU	1 (0.0%)	0 (0.0%)	1 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)
U	1 (0.0%)	0 (0.0%)	1 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)

**Supplementary Table S5: HIV-1 subtype and CRF prevalence in GenBank and our Southern Russia samples**  
<sup>a</sup>annotated (for LA samples) or determined (for the 303 Southern Russia samples) subtype or CRF; <sup>b</sup>all p51-annotated samples included in the FSU-LA dataset; <sup>c</sup>all p51-annotated samples included in the RU-LA dataset. Statistically significant differences between our results and LA datasets are highlighted in bold.

RAMs per sample	PI	Number of sequences with RAMs		
		NRTI	NNRTI	INI
0 RAMs	237 (90.8%)	148 (53.4%)	200 (72.2%)	59 (96.7%)
1 RAM	10 (3.8%)	77 (27.8%)	49 (17.7%)	1 (1.6%)
2 RAMs	7 (2.7%)	21 (7.6%)	17 (6.1%)	0 (0.0%)
3 RAMs	2 (0.8%)	10 (3.6%)	8 (2.9%)	1 (1.6%)
4 RAMs	4 (1.5%)	9 (3.2%)	1 (0.4%)	0 (0.0%)
5 RAMs	1 (0.4%)	6 (2.2%)	2 (0.7%)	0 (0.0%)
6 RAMs	0 (0.0%)	3 (1.1%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)
7 RAMs	0 (0.0%)	3 (1.1%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)

**Supplementary Table S6: Number of RAMs per sequence according drug class**

<b>FSU country</b>		<b>Non-FSU country</b>			
Armenia	186 (2.0%)	Australia	6 (0.1%)	Portugal	2 (0.0%)
Azerbaijan	37 (0.4%)	Austria	2 (0.0%)	Republic of Korea	4 (0.0%)
Belarus	367 (4%)	Belgium	2 (0.0%)	Spain	44 (0.5%)
Bulgaria	4 (0%)	China	20 (0.2%)	Sweden	8 (0.1%)
Czech Republic	126 (1.4%)	Cyprus	35 (0.4%)	Switzerland	2 (0.0%)
Estonia	61 (0.7%)	Democratic Republic of the Congo	1 (0.0%)	Turkey	37 (0.4%)
Georgia	30 (0.3%)	Denmark	3 (0.0%)	U.S.A.	16 (0.2%)
Hungary	5 (0.1%)	Finland	3 (0.0%)	UK	32 (0.3%)
Kazakhstan	251 (2.7%)	France	10 (0.1%)	Unknown	1 (0.0%)
Kyrgyzstan	155 (1.7%)	Germany	110 (1.2%)		
Latvia	612 (6.6%)	Greece	1 (0.0%)		
Lithuania	18 (0.2%)	India	2 (0.0%)		
Poland	51 (0.6%)	Italy	6 (0.1%)		
Republic of Moldova	12 (0.1%)	Japan	7 (0.1%)		
Russian Federation	5690 (61.6%)	Kuwait	1 (0.0%)		
Slovenia	21 (0.2%)	Mongolia	10 (0.1%)		
Tajikistan	276 (3%)	Netherlands	1 (0.0%)		
Ukraine	682 (7.4%)	Norway	2 (0.0%)		
Uzbekistan	288 (3.1%)	Philippines	2 (0.0%)		
<b>Total FSU: 8872 (96%)</b>		<b>Total non-FSU: 370 (4.0%)</b>			

**Supplementary Table S7: Country of origin of HIV-1 sequences (any genomic region) annotated as subclade A6 in Los Alamos database**

FSU: former Soviet Union country

FSU Country		Non-FSU Country			
Belarus	2 (0.0%)	Afghanistan	3 (0.0%)	Italy	231 (3.0%)
Bulgaria	4 (0.1%)	Algeria	17 (0.2%)	Japan	45 (0.6%)
Estonia	11 (0.1%)	Angola	82 (1.1%)	Kenya	104 (1.4%)
Kyrgyzstan	1 (0.0%)	Australia	7 (0.1%)	Kuwait	4 (0.1%)
Latvia	2 (0.0%)	Austria	2 (0.0%)	Lebanon	2 (0.0%)
Lithuania	3 (0.0%)	Bangladesh	7 (0.1%)	Liberia	34 (0.4%)
Poland	4 (0.1%)	Belgium	86 (1.1%)	Luxembourg	100 (1.3%)
Romania	20 (0.3%)	Benin	29 (0.4%)	Macao	5 (0.1%)
Russia	390 (5.1%)	Brazil	2 (0.0%)	Madagascar	4 (0.1%)
Serbia	7 (0.1%)	Burkina Faso	8 (0.1%)	Malaysia	16 (0.2%)
Slovakia	1 (0.0%)	Burundi	3 (0.0%)	Mali	10 (0.1%)
Slovenia	4 (0.1%)	Cameroon	893 (11.7%)	Mauritania	4 (0.1%)
Tajikistan	1 (0.0%)	Canada	20 (0.3%)	Morocco	36 (0.5%)
Ukraine	1 (0.0%)	Cape Verde	90 (1.2%)	Mozambique	11 (0.1%)
Uzbekistan	2 (0.0%)	Central African Republic	35 (0.5%)	Netherlands	163 (2.1%)
		Chad	14 (0.2%)	Niger	32 (0.4%)
		China	37 (0.5%)	Nigeria	1446 (19.0%)
		Congo	44 (0.6%)	Pakistan	13 (0.2%)
		Cote d'Ivoire	17 (0.2%)	Philippines	3 (0.0%)
		Cuba	122 (1.6%)	Portugal	1417 (18.6%)
		Cyprus	1 (0.0%)	Republic of Korea	51 (0.7%)
		Czech Republic	17 (0.2%)	Saudi Arabia	28 (0.4%)
		Democratic Republic of the Congo	303 (4.0%)	Senegal	47 (0.6%)
		Denmark	29 (0.4%)	Singapore	1 (0.0%)
		Ecuador	3 (0.0%)	South Africa	13 (0.2%)
		Equatorial Guinea	8 (0.1%)	Spain	348 (4.6%)
		Ethiopia	1 (0.0%)	Sweden	19 (0.2%)
		Fiji	1 (0.0%)	Switzerland	32 (0.4%)
		Finland	6 (0.1%)	Taiwan	28 (0.4%)
		France	265 (3.5%)	Thailand	6 (0.1%)
		Gabon	27 (0.4%)	Togo	102 (1.3%)
		Gambia	4 (0.1%)	Tunisia	4 (0.1%)
		Germany	66 (0.9%)	Turkey	9 (0.1%)
		Ghana	123 (1.6%)	Uganda	29 (0.4%)
		Greece	15 (0.2%)	UK	179 (2.3%)
		Guinea	7 (0.1%)	United Republic of Tanzania	1 (0.0%)
		Guinea-Bissau	13 (0.2%)	U.S.A.	75 (1.0%)
		India	1 (0.0%)	Venezuela	1 (0.0%)
		Indonesia	2 (0.0%)	Zambia	57 (0.7%)
		Ireland	1 (0.0%)	Zimbabwe	1 (0.0%)
		Israel	4 (0.1%)	Unknown	43 (0.6%)
<b>Total FSU: 453 (5.9%)</b>		<b>Total non-FSU: 7169 (94.1%)</b>			

**Supplementary Table S8: Country of origin of HIV-1 sequences (any genomic region) annotated as subtype G in Los Alamos database**

FSU: former Soviet Union country

## 4. Diskussion

HIV ist und bleibt ein globales Gesundheitsproblem mit ca. 38,4 Millionen Infizierten Ende 2021(3). Bis heute sind mehr als 40,1 Millionen Menschen durch HIV gestorben, allein im Jahr 2021 waren es 650.000 (3).

Um die gesundheitliche Versorgung zu verbessern und die HIV-Epidemie zu beenden, hat sich die UNAIDS bis zum Jahr 2020 die sogenannten 90-90-90 targets als Ziel gesetzt: 90% aller HIV-Infizierten sollen von Ihrer Infektion wissen, 90% der Patienten mit diagnostizierter HIV-Infektion sollen eine Therapie erhalten und 90% der Leute, die therapiert werden, sollen eine Viruslast unterhalb der Nachweisgrenze haben (11). Bis 2030 gilt als neues Ziel die Fast Track-strategy, hier wurde sich 95% analog zu den 90-90-90 targets als Ziel gesetzt (4). Der größte Erfolg dieses Programms konnte in Ost- und Südafrika mit einem Rückgang der Neuinfektionsraten um 44% zwischen 2010 und 2021 verzeichnet werden. In den übrigen Regionen zeigte sich auch ein Rückgang der Neuinfektionsraten, wenn auch geringer als in Ost- und Südafrika. Einzig in Osteuropa und Zentralasien zeigte sich ein Anstieg der HIV-1 Neuinfektionen zwischen 2010 und 2021 um 48,0% (1; 2). Auch in Russland ist ein Anstieg der Neuinfektionen zu verzeichnen. Es bleibt aber unklar, ob dieser Anstieg gemeldeter HIV-Infektionen tatsächlich auf mehr Neuinfektionen zurückzuführen ist, oder dadurch verursacht ist, dass bereits Infizierte jetzt erst an das Gesundheitssystem angebunden werden und dadurch die Rate der gemeldeten Infektionen angestiegen ist. Seltene Therapie und geringe Therapieadhärenz führen dazu, dass viele HIV-1-Infizierte eine nachweisbare Viruslast haben. Bei Risikokontakten zu Nicht-Infizierten ist so die Wahrscheinlichkeit der Übertragung höher (128; 129).

Auch was die Verteilung der verschiedenen Transmissionswege angeht, unterscheidet sich die HIV-Epidemie in Russland von anderen Regionen auf der Welt. In Westeuropa und Nordamerika geschehen die meisten HIV-Übertragungen durch MSM, 2021 waren es 64,0% (1). Der zweithäufigste Übertragungsweg stellt die Infektion über sexuellen Kontakt mit anderen Risikogruppen und Sexarbeitern mit 10,04% dar. PWID machen mit 12,0% einen vergleichsweise geringen Anteil aus. In Lateinamerika stellt MSM ebenfalls den häufigsten Übertragungsweg mit 48,0% dar. In Ost- und Südafrika ist die Übertragung über sexuellen Kontakt mit anderen Risikogruppen und Sexarbeitern am meisten verbreitet mit 38,0%, wobei für 54,0% der Neuinfektionen keine Zuordnung zu einer bestimmten Risikogruppe erfolgte. Ähnlich ist es in West- und Zentralafrika, dort haben 26,0% der Neuinfizierten kein Risikoverhalten angegeben und mit 52,0% ist auch dort sexuelle Übertragung durch Kontakt mit Risikogruppen und Sexarbeitern am häufigsten (1). Ähnlich wie in Afrika spielt in Osteuropa und Zentralasien den offiziellen Statistiken zufolge die Übertragung durch MSM eine kleine Rolle mit insgesamt 6,0%, die Übertragung durch heterosexuelle Kontakte mit 33,0% der Neuinfektionen eine größere Rolle (38). Jedoch ist PWID, anders als in Afrika, 2014 der

häufigste angegebene Transmissionsweg überhaupt mit 51,0%, (38). 2021 hat sich die Verteilung etwas geändert, PWID bleibt aber mit 39,0% häufigster Transmissionsweg, der Anteil von MSM ist auf 22,0% gestiegen. Der Anteil heterosexueller Übertragung ist stabil bei 33,0 % geblieben (1). Genaue Daten aus Russland gibt es in den Berichten von UNAIDS nicht, diese wurden nicht übermittelt (7). Den Daten zufolge, die in meiner Studie präsentiert wurden, infizierten sich 32,0% durch PWID, 27,1% heterosexuell, 25,1% nosokomial und lediglich 2,6% durch MSM. Es bleibt zu diskutieren, ob es ein Bias in meiner und den anderen Studien zu Transmissionswegen gibt, die die HIV-Epidemiologie in Russland untersuchen. Insgesamt gesehen werden HIV-Infizierte in Russland stark stigmatisiert und diskriminiert. Eine HIV-Infektion wird mit einem unmoralischen Verhalten, wie zum Beispiel Drogenkonsum, Promiskuität oder Homosexualität assoziiert (130). Gewalt gegenüber PWID, MSM und Prostituierten durch Polizei ist ebenfalls häufig (39; 131). Dies führt dazu, dass viele MSM oder PWID aufgrund von Stigmatisierung und Angst vor Polizei keinen Kontakt zum Gesundheitssystem aufsuchen. Diese Hochrisikogruppen werden nur unzureichend auf HIV getestet, weswegen sich zum Beispiel viele PWID nicht ihres Infektionsstatus bewusst sind. In St. Petersburg konnte zum Beispiel 2010 eine HIV-Prävalenz unter PWID von 50,0% nachgewiesen werden, wobei sich nur 64,0% der Getesteten sich ihres positiven HIV-Status nicht bewusst waren. 24,0% waren dabei noch nie in ihrem Leben getestet worden (132). Eine zusätzliche Problematik bei den PWID ist die Tatsache, dass es in Russland keine Opioid-Substitutionstherapie gibt, daher keine begleitenden HIV-Tests und auch die Bereitstellung sauberer, steriler Spritzen ist limitiert (6; 11). Bei MSM ist die Situation genauso schwierig. Auch politisch gesehen haben es Homosexuelle in Russland eher schwer. Mit Erlass des umgangssprachlich genannten „anti-gay-propaganda law“ 2013 wurde zum Schutz von Kindern jegliches Teilen von Informationen zu Homosexualität oder anderen, dem nicht traditionellen Bild entsprechenden, sexuellen Orientierungen strafbar gemacht und wird mit einer Geldstrafe oder sogar Gefängnisstrafe geahndet. Daher ist die Übertragung durch MSM offiziell eher gering (25; 38; 133), wird jedoch eigentlich höher geschätzt. Tatsächlich wird in aktuellen Veröffentlichungen der UN der Anteil an den Neuinfektionen durch MSM deutlich höher, und zwar auf 22% geschätzt (1). Eine 2016 veröffentlichte Studie zeigte, dass 15,6% der MSM einer Studiengruppe aus Moskau mit HIV infiziert waren und nur 23,4% sich vor Teilnahme an der Studie ihres HIV-Infektionsstatus bewusst (40). Dies stellt das große Problem dar, dass so die weitere Ausbreitung von HIV begünstigt wird. Von den MSM, die mit HIV-1 infiziert sind, waren 2014 nur 9,0% unter antiretroviraler Therapie (40). All dies wird dazu führen, dass bei einigen Diagnosen einer HIV-Infektion aus Angst oder Scham ein anderer Transmissionsweg angegeben wird, meistens heterosexuell. Dessen ungeachtet stützen Daten und Studien der letzten Jahre (1; 6; 11; 25; 38) und auch meine Ergebnisse die Tatsache, dass heterosexuelle Übertragung eine große Rolle in Russland spielt. Die Epidemie verlagert sich

zunehmend durch heterosexuelle Transmission von der Gruppe der PWID in die Bevölkerung, die keinen Drogenmissbrauch als Risikofaktor haben (134).

In meiner Studie wurde ein Großteil der Patienten nosokomial infiziert. Diese Beobachtung gilt alleinig für Südrussland und lässt sich wieder auf die Einschließung der Ende der achtziger Jahre infizierten ehemaligen Kinder in die Kohorte zurückführen (Reviewed in (41; 42)). Zwischen 1988 und 1989 sind mehr als 250 Kinder in mehreren Krankenhäusern in der Region durch den Gebrauch unsteriler Spritzen nosokomial infiziert worden. Diese Kohorte beinhaltet nur Patienten, die mit dem Subtyp G infiziert wurden. Sowohl Koinfektionen mit anderen Subtypen als auch Infektionen mit Subtyp G in anderen Gruppen, die in keiner direkten Verbindung zu der Kohorte der Kinder stehen, konnten nicht nachgewiesen werden, was darauf hinweist, dass diese Gruppe geschlossen ist und nicht zu Neuinfektionen in der Region beiträgt.

Die Prävalenz der verschiedenen HIV-1 Subtypen ist in Russland ebenfalls anders als im Rest der Welt.

Während weltweit gesehen Subtyp C am häufigsten ist, herrscht in Europa und Nordamerika Subtyp B vor (8; 135). Während in den USA Subtyp B 96,7% ausmacht und der häufigste non-B Subtyp C mit einer Prävalenz von 1,1% ist (136) , wird in West- und Zentraleuropa der Subtyp B in 70,2% der Infektionen nachgewiesen und aber auch in viel geringeren Anteilen Subtyp C (5,0%), CRF02\_AG (4,9%), Subtyp G (4,8%) und A (3,6%) (137).

In Deutschland, zum Beispiel in der RESINA-Kohorte, ist Subtyp B vorherrschend mit 73,0%, non-B Subtypen machen dort dementsprechend 27,0% aus. Unter den non-B Subtypen ist mit 39,0% der Subtyp A am häufigsten und CRF 02\_AG (26,0%) am zweithäufigsten zu finden. Subtyp C (11,0%), G (6,0%) und D (5,0%) sind seltener zu finden (138).

Die Epidemie in Russland und anderen ehemals sowjetischen Ländern wird durch den Subtyp A6 charakterisiert. A6 wird in vielen wissenschaftlichen Arbeiten als „russischer“ Subtyp A1 oder A-FSU oder IDU-A bezeichnet, nach dem geographischen Ursprung und nach dem häufigsten Transmissionsweg für diesen Subtyp. Ursprünglich wurde dieser Subtyp von Gabun, Kongo oder einer benachbarten Region in die Ukraine eingeführt. Zunächst erfolgte die begrenzte Ausbreitung über heterosexuelle Kontakte bis das Virus Einzug in die Drogenszene nahm (13; 21; 22). Über PWID konnte sich das Virus so rasend schnell ausbreiten und gelangte von der Ukraine auch nach Russland und in weitere ehemals sowjetischen Länder (9; 14-18). Meine initialen Ergebnisse haben dies mit einem Anteil 70,3% A1 bestätigt. Allerdings haben einige Arbeiten kürzlich darauf hingewiesen, dass der „russische“ Subtyp A1 anders ist als der Subtyp A1 der restlichen Welt und daher wurde der „russische“ Subtyp A1 2016 neu als A6 klassifiziert (23). In der aktuellen Literatur scheint aber noch Uneinigkeit und auch Unsicherheit bezüglich der genauen Zuordnung der Sequenzen

zum Subtyp A6 zu herrschen (25; 26). Es gibt noch keine Konsensus-Sequenz für diesen Subtyp und es ist daher schwierig, eine für die einheitliche Klassifizierung zu entwickeln.

A6-Sequenzen werden von allen verfügbaren bioinformatischen Interpretationstools wie zum Beispiel `geno2pheno` ([www.geno2pheno.org](http://www.geno2pheno.org)), HIVGrade ([www.hivgrade.de/cms/grade/homepage/](http://www.hivgrade.de/cms/grade/homepage/)), Comet (<http://comet.lih.lu>) und die Los Alamos Datenbank ([www.hiv.lanl.gov](http://www.hiv.lanl.gov)) als A1 klassifiziert. Um also den Subtyp A6 sicher identifizieren zu können, müssen phylogenetische Analysen durchgeführt werden. Da es bisher keine einheitliche Referenz- oder Konsensus-Sequenz für A6 gibt, sondern alle bisher genutzten Referenzen verschiedensten genetischen Regionen des Virus, wie LTR, gag, pol, IN, env oder nef zuzuordnen sind und keine Sequenz des kompletten Genoms von A6 existiert, (15; 21; 139; 140, Rumyantseva, 2009 #243) werden diese Analysen zusätzlich erschwert.

Um meine Proben mit dem Genotyp A6 sicher identifizieren zu können, habe ich mithilfe des Tools MEGA 7 (141), des Advanced Consensus Maker Tool von Los Alamos (<https://www.hiv.lanl.gov/content/sequence/CONSENSUS/AdvCon.html>) und Mutext (Eugen Schülter, Universität zu Köln) phylogenetische Analysen durchgeführt und für die *pol*-Region eine Konsensus-Sequenz für das A6 Virus erstellt. Für diesen Zweck habe ich alle Sequenzen aus der Los Alamos Datenbank genutzt, die als A6 gespeichert waren und auch die vier als offizielle A1 Referenz genutzten Sequenzen, um eine Unterscheidung zwischen den beiden Subtypen zu erreichen. Der phylogenetische Baum und auch die Berechnungen zur genetischen Distanz haben eine klare Trennung zwischen den Subtypen erlaubt. Als nächstes wurden die A6 Sequenzen von Los Alamos und meine A6 Sequenzen genutzt, um eine *pol*-Konsensus-Sequenz zu generieren. Für die Zukunft ist es jedoch wichtig, dass eine einheitliche Konsensus-Sequenz für das gesamte Genom des Virus mit dem Subtyp A6 erstellt wird und in bioinformatische Interpretationssysteme integriert wird, sodass dann eine sichere Zuordnung des Subtyps A6 nicht nur über die Region *pol* sondern auch über andere Regionen des Genoms mithilfe dieser Interpretationssysteme möglich ist. Unsere Arbeitsgruppe arbeitet gerade an der Entwicklung einer solchen Konsensus-Sequenz für das gesamte Genom, welches dann hoffentlich in nächster Zeit in das bioinformatische Interpretationssystem `geno2pheno` integriert werden kann.

Um dieses Problem zu bewältigen, habe ich eine phylogenetische Untersuchung mit allen als A6 und IDU-A klassifizierten Sequenzen aus der Los Alamos Datenbank, für die die Region PRRT verfügbar ist, durchgeführt. Eine Ähnlichkeit mit dem „klassischen“ Subtyp A1 konnte ich bei zwei Sequenzen entdecken, die als Vorläufer von A6 angesehen werden. Eine dieser Sequenzen, EU861997, wurde in anderen Arbeiten als Referenz für A6 genutzt, aber meine Untersuchung hat gezeigt, dass dies nicht optimal ist. Daher habe ich eine Konsensus-Sequenz entwickelt, die es besser ermöglicht zwischen A1 und A6 Sequenzen aus der Los Alamos Datenbank zu unterscheiden. Diese Konsensus-Sequenz habe ich dann genutzt, um

die initial als A1 klassifizierten Sequenz aus meiner Studie erneut zu analysieren. Und tatsächlich dominierte in meiner Studie A6 mit einem Anteil von 69,3%, während A1 nur 1,0% ausmachte.

Der „klassische“ Subtyp A1 aus Afrika konnte als Vorläufer von A6 identifiziert werden, was ebenfalls durch unsere Analysen unterstützt wird, da drei vormals als A1 identifizierte Sequenzen nicht direkt mit den A6 Sequenzen clustern, sich aber in unmittelbarer Nähe zum A6-Cluster befinden. Für diese Sequenzen wurde daher die Zuordnung zu A1 beibehalten, sie machen somit einen Anteil 1,0% aus.

Die Prävalenz der verschiedenen Subtypen, die in meiner Studie gefunden wurden, stimmen mit vorherigen Studien überein, die eine geringe molekulare Diversität der HIV-Epidemie in Russland beschreiben. Ich konnte bestätigen, dass Subtyp A6 vorherrschend ist, je nach Region ein größerer oder kleinerer Anteil von Rekombinanten wie CRF01\_AE, CRF02\_AG oder CRF03\_AB eingenommen wird und Subtyp B eine eher untergeordnete Rolle spielt (9; 25). Rekombinanten machen nur einen geringen Teil in unserer Kohorte aus, CRF02\_AG mit 2,3% und CRF01\_AE und CRF03\_AB mit jeweils 0,3%. Je nach Region kann dieser Anteil größer sein, in Sibirien z.B. nimmt CRF02\_AG und CRF63\_02A1, eine Rekombinante aus CRF02\_AG und A1, eine größere Rolle ein, CRF01\_AE z. B. eher in Ländern, die Kontakt zu beziehungsweise Migration aus Südostasien aufweisen (9; 32; 33). Lediglich der hohe Anteil an Subtyp G mit 23,4% in meiner Kohorte stellt eine Ausnahme im Vergleich mit anderen Daten dar. Dies lässt sich aber durch die bewusste Inklusion der Patienten/Kinder, die Ende der achtziger Jahre nosokomial in Südrussland mit diesem für diese Region eher untypischen Subtyp klonal infiziert worden waren, in unserer Studienpopulation erklären. Der mögliche Ursprung des Virus liegt in Zentralafrika, von wo er über den Vater an die Mutter und von der wiederum vertikal auf ihr Kind übertragen wurde. Dieses Kind war dann der Indexpatient für die weiteren Übertragungen auf andere Kinder in verschiedenen Krankenhäusern in Südrussland. Schätzungen zufolge wurden mehr als 250 Kinder infiziert, von denen ein Teil bereits kurz nach der Infektion verstarb (9; 41-43). Subtyp G ist in Europa sehr selten, nur in Spanien und Portugal macht er mit 12,0% bzw. 30,0% einen höheren Anteil aus (142-145). Ein weiterer Aspekt, der sicherlich auch zur hohen, in den Jahren 2010 - 2021 um 48,0% gestiegenen Neuinfektionsrate in Russland beiträgt, ist die Anbindung HIV-Infizierter an das Gesundheitssystem. Seltene Kontrollbesuche in einer medizinischen Einrichtung, der geringe Anteil an Infizierten, die aktuell eine antiretrovirale Therapie erhalten, und eine geringe Therapieadhärenz führen dazu, dass viele HIV-Infizierte eine nachweisbare Viruslast haben. Bei Risikokontakten zu Nicht-Infizierten ist so die Wahrscheinlichkeit der Übertragung höher (128; 129).

Infektionen mit dem Subtyp A6 sind in Russland mit PWID assoziiert, während Subtyp B unter MSM häufig ist (17; 146). In unserer Studie war Subtyp B signifikant mit MSM assoziiert und

A6 fand sich am häufigsten bei PWID oder heterosexueller Transmission. Subtyp G war mit nosokomialer Transmission assoziiert.

Die genaue Unterscheidung von IDU-B vom „westlichen“ Subtyp B ist bisher noch nicht ganz klar. Bei uns erfolgte keine genauere Analyse dieser Unterschiede, da nur wenige Proben den Subtyp B aufwiesen und eine weitere phylogenetische Analyse daher nicht möglich war. Die Proben, die den Subtyp B aufwiesen, waren alle MSM als Transmissionsweg zuzuordnen, keiner mit dem Subtyp B hatte intravenösen Drogenkonsum als Transmissionsweg angegeben.

In meiner Studie wurde ebenfalls auf Resistenz-assoziierte Mutationen hin untersucht. Daten zur Resistenzlage in Russland gibt es bisher nur wenig. Und die Daten, die es gibt, sind meist aus Studien, die in St. Petersburg oder Moskau durchgeführt wurden (9; 146). Für Südrussland gab es bisher nur wenige Daten. Anhand meiner Arbeit lässt sich nun ein klares Bild der Epidemiologie und zirkulierenden Resistenzen in Südrussland zeichnen.

Ich konnte zeigen, dass in Russland Resistenzen gegenüber NRTIs, NNRTIs, PIs und INIs bestehen. 14,5% der Sequenzen zeigten zumindest eine intermediäre Resistenz gegenüber PIs, gegenüber NRTIs oder NNRTIs waren es sogar mehr als 27,0%. Die Resistenzrate gegenüber INIs lag bei 8,0%. Die am häufigsten gefundenen Mutationen, die mit einer PI-Resistenz assoziiert sind, waren M46IL mit 25,5%, L90M und V82AFMST mit jeweils 19,6% und I54AV mit 15,7%. Für NRTIs waren die häufigsten detektierten Mutationen A62V mit 23,1%, M184IV mit 22,7% und T215CFILNSY mit 14,4%. Für NNRTI wurde am häufigsten K103NS mit 22,2%, E138AGHKQR mit 17,5% und G190AS mit 16,7% gefunden. Da nur 8,0% eine mit INI-Resistenz assoziierte Mutation aufwiesen, haben die vier verschiedenen gefundenen Mutationen T66TK, G140A, Q148R und N155H jeweils einen Anteil von 25,0%. Die Prävalenz einiger bestimmter RAMs korreliert dabei signifikant mit einem bestimmten Subtyp. So waren die PI-RAMs I54A, M46IL, L90M, V82AM, die NRTI-RAMs M41L, D67N, L210W, T215F, T215Y, K219Q, und die NNRTI-RAM V179E signifikant öfter bei Subtyp G zu finden. Dagegen waren die PI-RAM A62V und NNRTI-RAM G190S signifikant häufiger bei A6. Man weiß, dass non-B Subtypen teilweise andere Mutationsmuster und -pfade aufweisen und diese zu anderen Suszeptibilitätseinschränkungen führen können (98; 99; 147; 148) Das Auftreten von NRTI RAM M41L konnte in einer Studie aus Nigeria signifikant häufiger mit Subtyp G assoziiert werden (149). Bezüglich der mit Protease-Inhibitor-Resistenz assoziierten Mutationen ist das Auftreten von L90M bei Subtyp G zum Beispiel mit einer low-level Resistenz gegenüber dem Proteaseinhibitor Nelfinavir aber nicht gegenüber Saquinavir assoziiert, während sie bei Subtyp B eine Resistenz gegenüber Saquinavir und Nelfinavir verursacht. Die Mutation I54V wird im Subtyp G häufiger in Gegenwart von Nelfinavir selektiert (150).

Mit dem Subtyp A6 war in meiner Analyse hingegen die Reverse Transkriptase RAM A62V signifikant assoziiert. A62 ist ein häufig beim Subtyp A6 gefundener Polymorphismus (20; 151;

152) und wird als adaptive Mutation bezeichnet, die alleine keine Resistenz vermittelt aber in Kombination mit anderen Mutationen bei multi-drug-resistenten Viren in der Lage ist, virale Fitness, Mutationsrate und Medikamentensensibilität zu beeinflussen (153-155). Die Mutation G190S wird selten bei non-A6- Subtypen gefunden und tritt gehäuft bei A6 bei Therapie mit Efavirenz und Nevirapin auf (152; 156). Sie verursacht unter anderem eine Resistenz gegen Doravirin, Efavirenz und Nevirapin (19; 151; 152) und führt weiterhin zur Einschränkung der Suszeptibilität gegenüber Etravirin und Rilpivirin. Auch hier gibt es keine weiteren Untersuchungen, wie sich diese Suszeptibilitätseinschränkungen klinisch beim Vorliegen eines Subtyp A6 auswirken. Die meisten Daten zu Mutationen und Medikamentensensibilität basieren auf Daten zum Subtyp B, und es gibt bisher keine phänotypischen assays zur Analyse spezifischer RAMs bezogen auf den Subtyp A6. Unsere Forschungsgruppe arbeitet gerade an der Entwicklung eines A6-Klons zur phänotypischen Resistenztestung, um unter anderem die Rolle der Mutation A62V und der NRTI-RAM G190S sowie von anderen RAMs bezüglich der Medikamentensensibilität eingehend zu untersuchen.

Informationen bezüglich der antiretroviralen Therapie waren verfügbar für 249 von 303 Patienten. 121 Patienten waren zum Zeitpunkt der Blutuntersuchung Therapie-naiv und 128 Patienten Therapie-erfahren. Alle Therapie-erfahrenen Patienten hatten NRTIs erhalten, wovon 22 eine Monotherapie mit AZT erhalten hatten und zwei sogar zweimal eine Monotherapie mit AZT. Die Hälfte der Therapie-Erfahrenen ist mit NNRTIs und/oder PIs behandelt worden, aber nur einer mit INIs. Bei den Therapie-Erfahrenen korrelierte das Auftreten von RAMs mit den angegebenen, vorher erhaltenen Therapien. Das Auftreten von zwei oder mehr als zwei NRTI-RAMs hängt zusammen mit einer Therapiehistorie von drei oder mehr NRTI oder einer AZT-Monotherapie. Der Nachweis von einer oder mehr NNRTI-RAMs oder bedeutenden PI-RAMs korrelierte mit einem oder mehr NNRTIs oder PIs in der vorangegangenen Therapie. Diese Beobachtungen und Häufigkeiten sind vergleichbar mit denen, die zuletzt für Therapie-Erfahrene in West- und Zentraleuropa beschrieben sind, wo die durchschnittliche Resistenz gegenüber PIs bei ca. 15,0%, gegenüber NRTIs bei 20,0% und 30,0% gegenüber NNRTIs liegt (157; 158). Die Prävalenz von Medikamentenresistenzen von HIV-1 bei Therapie-Erfahrenen sinkt in Westeuropa und den USA (159; 160). Veränderungen bezüglich der Prävalenz von Resistenzen in ehemals sowjetischen Ländern in den letzten Jahren sind bisher noch nicht ausführlich untersucht worden.

Für 12,0% der Therapie-naiven Patienten konnten wir auch eine Transmission von resistenten Viren ermitteln, ein Anteil, der dem in Italien (161; 162) oder Deutschland (157; 158) für denselben Zeitraum beschriebenen ähnelt. Für NRTI TDR haben wir eine Rate von 6,4% gefunden, ähnlich der in Italien beschriebenen mit 6,0% oder der in Deutschland mit 7,0%. Der Anteil von PI TDR bei unseren Proben betrug 8,0%, höher als in Italien oder Deutschland, wo

der Anteil zwischen 2,0% und 5,0% lagen. Diese höhere Rate an PI TDR kann daran liegen, dass in Russland weitestgehend ältere PIs wie ATV, NFV und SQV genutzt werden als in West- und Zentraleuropa. Dort wurden die älteren PIs längst durch neuere wie DRV abgelöst. Für NNRTI ist eine TDR von 3,0-4,0% in diesen Ländern beschrieben. Wir konnten aber keine NNRTI TDR in Südrussland trotz eines hohen Einsatzes von Nevirapin und Efavirenz zur HIV-Therapie in dieser Region nachweisen.

## 5. Literaturverzeichnis

- 1UNAIDS (2022). In Danger - UNAIDS Global AIDS Update 2022. <https://www.unaids.org/en/resources/documents/2022/in-danger-global-aids-update> (Zuletzt abgerufen am 07.09.2022)
- 2UNAIDS (2021). UNAIDS data 2021. [https://www.unaids.org/en/resources/documents/2021/2021\\_unaids\\_data](https://www.unaids.org/en/resources/documents/2021/2021_unaids_data) (Zuletzt abgerufen am 07.09.2022)
- 3WHO (2022). HIV/AIDS fact sheet. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/hiv-aids> (Zuletzt abgerufen am 07.09.2022)
- 4UNAIDS (2014). Fast Track- ending the AIDS epidemic by 2030. [https://www.unaids.org/en/resources/documents/2014/JC2686\\_WAD2014report](https://www.unaids.org/en/resources/documents/2014/JC2686_WAD2014report) (Zuletzt abgerufen am 13.11.2020)
- 5WHO (2019). HIV/AIDS fact sheet. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/hiv-aids> (Zuletzt abgerufen am 06.11.2020)
- 6UNAIDS (2019). Global AIDS update 2019 - Communities at the centre. [https://www.unaids.org/sites/default/files/media\\_asset/2019-global-AIDS-update\\_en.pdf](https://www.unaids.org/sites/default/files/media_asset/2019-global-AIDS-update_en.pdf) (Zuletzt abgerufen am 12.11.2020)
- 7UNAIDS (2019). UNAIDS data 2019. [https://www.unaids.org/sites/default/files/media\\_asset/2019-UNAIDS-data\\_en.pdf](https://www.unaids.org/sites/default/files/media_asset/2019-UNAIDS-data_en.pdf) (Zuletzt abgerufen am 06.11.2020)
- 8Hemelaar, J, Gouws, E, Ghys, PD, Osmanov, S, Isolation, W-UNfH, Characterisation (2011). Global trends in molecular epidemiology of HIV-1 during 2000-2007. *AIDS*. 25(5): 679-89
- 9Bobkova, M (2013). Current status of HIV-1 diversity and drug resistance monitoring in the former USSR. *AIDS Rev*. 15(4): 204-12
- 10UNAIDS (2016). Prevention gap report 2016. [http://www.unaids.org/sites/default/files/media\\_asset/2016-prevention-gap-report\\_en.pdf](http://www.unaids.org/sites/default/files/media_asset/2016-prevention-gap-report_en.pdf) (Zuletzt abgerufen am 13.11.2020)
- 11UNAIDS (2018). Miles to go - Global AIDS update 2018. [http://www.unaids.org/sites/default/files/media\\_asset/miles-to-go\\_en.pdf](http://www.unaids.org/sites/default/files/media_asset/miles-to-go_en.pdf) (Zuletzt abgerufen am 13.11.2020)
- 12Bobkov, A, Cheingsong-Popov, R, Selimova, L, Kazennova, E, Karasyova, N, Kravchenko, A, Ladnaya, N, Pokrovsky, V, Weber, J (1996). Genetic heterogeneity of HIV type 1 in Russia: identification of H variants and relationship with epidemiological data. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 12(18): 1687-90
- 13Novitsky, VA, Montano, MA, Essex, M (1998). Molecular epidemiology of an HIV-1 subtype A subcluster among injection drug users in the Southern Ukraine. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 14(12): 1079-85
- 14Bobkov, A, Cheingsong-Popov, R, Selimova, L, Ladnaya, N, Kazennova, E, Kravchenko, A, Fedotov, E, Saukhat, S, Zverev, S, Pokrovsky, V, Weber, J (1997). An HIV type 1 epidemic among injecting drug users in the former Soviet Union caused by a homogeneous subtype A strain. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 13(14): 1195-201
- 15Bobkov, A, Kazennova, E, Selimova, L, Bobkova, M, Khanina, T, Ladnaya, N, Kravchenko, A, Pokrovsky, V, Cheingsong-Popov, R, Weber, J (1998). A sudden epidemic of HIV type 1 among injecting drug users in the former Soviet Union: identification of subtype A, subtype B, and novel gagA/envB recombinants. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 14(8): 669-76
- 16Nabatov, AA, Kravchenko, ON, Lyulchuk, MG, Shcherbinskaya, AM, Lukashov, VV (2002). Simultaneous introduction of HIV type 1 subtype A and B viruses into injecting drug users in southern Ukraine at the beginning of the epidemic in the former Soviet Union. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 18(12): 891-5
- 17Bobkov, AF, Kazennova, EV, Selimova, LM, Khanina, TA, Ryabov, GS, Bobkova, MR, Sukhanova, AL, Kravchenko, AV, Ladnaya, NN, Weber, JN, Pokrovsky, VV (2004). Temporal

trends in the HIV-1 epidemic in Russia: predominance of subtype A. *J Med Virol.* 74(2): 191-6

18Kazenova, E, Laga, V, Lapovok, I, Glushchenko, N, Neshumaev, D, Vasilyev, A, Bobkova, M (2014). HIV-1 genetic variants in the Russian Far East. *AIDS Res Hum Retroviruses.* 30(8): 742-52

19Karkashadze, E, Dvali, N, Bolokadze, N, Sharvadze, L, Gabunia, P, Karchava, M, Tchelidze, T, Tsertsvadze, T, DeHovitz, J, Del Rio, C, Chkhartishvili, N (2019). Epidemiology of human immunodeficiency virus (HIV) drug resistance in HIV patients with virologic failure of first-line therapy in the country of Georgia. *J Med Virol.* 91(2): 235-40

20Rumyantseva, OA, Olkhovskiy, IA, Malysheva, MA, Ruzaeva, LA, Vasiliev, AV, Kazenova, EV, Bobkova, MR, Lukashov, VV (2009). Epidemiological networks and drug resistance of HIV type 1 in Krasnoyarsk region, Russia. *AIDS Res Hum Retroviruses.* 25(9): 931-6

21Thomson, MM, de Parga, EV, Vinogradova, A, Sierra, M, Yakovlev, A, Rakhmanova, A, Delgado, E, Casado, G, Munoz, M, Carmona, R, Vega, Y, Perez-Alvarez, L, Contreras, G, Medrano, L, Osmanov, S, Najera, R (2007). New insights into the origin of the HIV type 1 subtype A epidemic in former Soviet Union's countries derived from sequence analyses of preepidemically transmitted viruses. *AIDS Res Hum Retroviruses.* 23(12): 1599-604

22Diez-Fuertes, F, Cabello, M, Thomson, MM (2015). Bayesian phylogeographic analyses clarify the origin of the HIV-1 subtype A variant circulating in former Soviet Union's countries. *Infect Genet Evol.* 33: 197-205

23Foley, BT, Leitner, T, Paraskevis, D, Peeters, M (2016). Primate immunodeficiency virus classification and nomenclature: Review. *Infect Genet Evol.* 46: 150-8

24Schlosser, M, Kartashev, VV, Mikkola, VH, Shemshura, A, Saukhat, S, Kolpakov, D, Suladze, A, Tverdokhlebova, T, Hutt, K, Heger, E, Knops, E, Bohm, M, Di Cristanziano, V, Kaiser, R, Sonnerborg, A, Zazzi, M, Bobkova, M, Sierra, S (2020). HIV-1 Sub-Subtype A6: Settings for Normalised Identification and Molecular Epidemiology in the Southern Federal District, Russia. *Viruses.* 12(4):

25Aibekova, L, Foley, B, Hortelano, G, Raees, M, Abdraimov, S, Toichuev, R, Ali, S (2018). Molecular epidemiology of HIV-1 subtype A in former Soviet Union countries. *PLoS One.* 13(2): e0191891

26Karamov, E, Epremyan, K, Siniavin, A, Zhernov, Y, Cuevas, MT, Delgado, E, Sanchez-Martinez, M, Carrera, C, Kornilaeva, G, Turgiev, A, Bacque, J, Perez-Alvarez, L, Thomson, MM (2018). HIV-1 Genetic Diversity in Recently Diagnosed Infections in Moscow: Predominance of AFSU, Frequent Branching in Clusters, and Circulation of the Iberian Subtype G Variant. *AIDS Res Hum Retroviruses.* 34(7): 629-34

27Liitsola, K, Tashkinova, I, Laukkanen, T, Korovina, G, Smolskaja, T, Momot, O, Mashkilleyson, N, Chaplinskias, S, Brummer-Korvenkontio, H, Vanhatalo, J, Leinikki, P, Salminen, MO (1998). HIV-1 genetic subtype A/B recombinant strain causing an explosive epidemic in injecting drug users in Kaliningrad. *AIDS.* 12(14): 1907-19

28Kurbanov, F, Kondo, M, Tanaka, Y, Zalalieva, M, Giasova, G, Shima, T, Jounai, N, Yuldasheva, N, Ruzibakiev, R, Mizokami, M, Imai, M (2003). Human immunodeficiency virus in Uzbekistan: epidemiological and genetic analyses. *AIDS Res Hum Retroviruses.* 19(9): 731-8

29Caplinskias, S, Loukachov, VV, Gasich, EL, Gilyazova, AV, Caplinskiene, I, Lukashov, VV (2013). Distinct HIV type 1 strains in different risk groups and the absence of new infections by drug-resistant strains in Lithuania. *AIDS Res Hum Retroviruses.* 29(4): 732-7

30Carr, JK, Nadai, Y, Eyzaguirre, L, Saad, MD, Khakimov, MM, Yakubov, SK, Birx, DL, Graham, RR, Wolfe, ND, Earhart, KC, Sanchez, JL (2005). Outbreak of a West African recombinant of HIV-1 in Tashkent, Uzbekistan. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 39(5): 570-5

31Eyzaguirre, LM, Erasilova, IB, Nadai, Y, Saad, MD, Kovtuneneko, NG, Gomasos, PJ, Zeman, VV, Botros, BA, Sanchez, JL, Birx, DL, Earhart, KC, Carr, JK (2007). Genetic characterization of HIV-1 strains circulating in Kazakhstan. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 46(1): 19-23

32Baryshev, PB, Bogachev, VV, Gashnikova, NM (2012). Genetic characterization of an isolate of HIV type 1 AG recombinant form circulating in Siberia, Russia. *Arch Virol.* 157(12): 2335-41

- 33Baryshev, PB, Bogachev, VV, Gashnikova, NM (2014). HIV-1 genetic diversity in Russia: CRF63\_02A1, a new HIV type 1 genetic variant spreading in Siberia. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 30(6): 592-7
- 34Gashnikova, NM, Bogachev, VV, Baryshev, PB, Totmenin, AV, Gashnikova, MP, Kazachinskaya, AG, Ismailova, TN, Stepanova, SA, Chernov, AS, Mikheev, VN (2015). A rapid expansion of HIV-1 CRF63\_02A1 among newly diagnosed HIV-infected individuals in the Tomsk Region, Russia. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 31(4): 456-60
- 35Bobkov, A, Cheingsong-Popov, R, Selimova, L, Ladnaya, N, Kazennova, E, Kravchenko, A, Pokrovsky, V, Weber, J (1997). HIV type 1 subtype E in Russia. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 13(8): 725-7
- 36Laboratory, LAN (2020). HIV and SIV nomenclature. <https://hfv.lanl.gov/content/sequence/HelpDocs/subtypes-more.html> (Zuletzt abgerufen am 13.11.2020)
- 37Gao, F, Robertson, DL, Morrison, SG, Hui, H, Craig, S, Decker, J, Fultz, PN, Girard, M, Shaw, GM, Hahn, BH, Sharp, PM (1996). The heterosexual human immunodeficiency virus type 1 epidemic in Thailand is caused by an intersubtype (A/E) recombinant of African origin. *J Virol*. 70(10): 7013-29
- 38UNAIDS (2016). Global AIDS Update. <http://www.unaids.org/en/resources/documents/2016/Global-AIDS-update-2016> (Zuletzt abgerufen am 13.11.2020)
- 39Watch, HR (2014). Human rights watch report 2014 Russia. <https://www.hrw.org/world-report/2014/country-chapters/russia> (Zuletzt abgerufen am 06.11.2020)
- 40Wirtz, AL, Zelaya, CE, Latkin, C, Peryshkina, A, Galai, N, Mogilniy, V, Dzhigun, P, Kostetskaya, I, Mehta, SH, Beyrer, C (2016). The HIV care continuum among men who have sex with men in Moscow, Russia: a cross-sectional study of infection awareness and engagement in care. *Sex Transm Infect*. 92(2): 161-7
- 41Bobkov, A, Cheingsong-Popov, R, Garaev, M, Rzhaniyeva, A, Kaleebu, P, Beddows, S, Bachmann, MH, Mullins, JI, Louwagie, J, Janssens, W, et al. (1994). Identification of an env G subtype and heterogeneity of HIV-1 strains in the Russian Federation and Belarus. *AIDS*. 8(12): 1649-55
- 42Bobkov, A, Garaev, MM, Rzhaniyeva, A, Kaleebu, P, Pitman, R, Weber, JN, Cheingsong-Popov, R (1994). Molecular epidemiology of HIV-1 in the former Soviet Union: analysis of env V3 sequences and their correlation with epidemiologic data. *AIDS*. 8(5): 619-24
- 43Pokrovskii, VV, Eramova, I, Deulina, MO, Lipetnikov, VV, Iashkulov, KB, Sliusareva, LA, Chemizova, NM, Savchenko, SP (1990). An intrahospital outbreak of HIV infection in Elista. *Zh Mikrobiol Epidemiol Immunobiol*.(4): 17-23 [Article in Russian]
- 44Heuverswyn, Fv, Peeters, M (2008). Human Immunodeficiency Viruses: Origin. *Encyclopedia of Virology*. B. W. J. Mahy and M. H. V. v. Regenmortel. Boston Amsterdam, Academic Press: 525-34.
- 45Votteler, J, Schubert, U (2008). Human Immunodeficiency Viruses: Molecular Biology. *Encyclopedia of Virology*. B. W. J. Mahy and M. H. V. v. Regenmortel. Amsterdam Boston, Academic Press: 517-25.
- 46Plantier, JC, Leoz, M, Dickerson, JE, De Oliveira, F, Cordonnier, F, Lemee, V, Damond, F, Robertson, DL, Simon, F (2009). A new human immunodeficiency virus derived from gorillas. *Nat Med*. 15(8): 871-2
- 47Barre-Sinoussi, F, Chermann, JC, Rey, F, Nugeyre, MT, Chamaret, S, Gruest, J, Dauterive, C, Axler-Blin, C, Vezinet-Brun, F, Rouzioux, C, Rozenbaum, W, Montagnier, L (1983). Isolation of a T-lymphotropic retrovirus from a patient at risk for acquired immune deficiency syndrome (AIDS). *Science*. 220(4599): 868-71
- 48Levy, JA, Hoffman, AD, Kramer, SM, Landis, JA, Shimabukuro, JM, Oshiro, LS (1984). Isolation of lymphocytopathic retroviruses from San Francisco patients with AIDS. *Science*. 225(4664): 840-2
- 49Gallo, RC, Salahuddin, SZ, Popovic, M, Shearer, GM, Kaplan, M, Haynes, BF, Palker, TJ, Redfield, R, Oleske, J, Safai, B, et al. (1984). Frequent detection and isolation of cytopathic retroviruses (HTLV-III) from patients with AIDS and at risk for AIDS. *Science*. 224(4648): 500-3

- 50Popovic, M, Sarngadharan, MG, Read, E, Gallo, RC (1984). Detection, isolation, and continuous production of cytopathic retroviruses (HTLV-III) from patients with AIDS and pre-AIDS. *Science*. 224(4648): 497-500
- 51Coffin, J, Haase, A, Levy, JA, Montagnier, L, Oroszlan, S, Teich, N, Temin, H, Toyoshima, K, Varmus, H, Vogt, P, et al. (1986). Human immunodeficiency viruses. *Science*. 232(4751): 697
- 52Klatt, NR, Chahroudi, A, Silvestri, G (2008). Human Immunodeficiency Viruses: Pathogenesis. *Encyclopedia of Virology*. B. W. J. Mahy and M. H. V. v. Regenmortel. Amsterdam  
Boston, Academic Press: 543-2.
- 53Neumann, AW, Liotta, DC (2008). Human Immunodeficiency Viruses: Antiretroviral Agents. *Encyclopedia of Virology*. B. W. J. Mahy and M. H. V. v. Regenmortel. Amsterdam  
Boston, Academic Press: 505-17.
- 54Li, S, Sieben, C, Ludwig, K, Hofer, CT, Chiantia, S, Herrmann, A, Eghiaian, F, Schaap, IA (2014). pH-Controlled two-step uncoating of influenza virus. *Biophys J*. 106(7): 1447-56
- 55Yamauchi, Y, Greber, UF (2016). Principles of Virus Uncoating: Cues and the Snooker Ball. *Traffic*. 17(6): 569-92
- 56Behrens, G, Berzow, D, Börgel, J, Boesecke, C, Braun, P (2020/2021). HIV 2020/2021. C. Hoffmann and J. K. Rockstroh. Hamburg, Medizin Fokus Verlag.
- 57Barmeyer, A, Behrens, G, Berzow, D, Boesecke, C (2018). HIV 2018/19. C. Hoffmann and J. K. Rockstroh. Hamburg, Medizin Fokus Verlag.
- 58Piatak, M, Jr., Saag, MS, Yang, LC, Clark, SJ, Kappes, JC, Luk, KC, Hahn, BH, Shaw, GM, Lifson, JD (1993). High levels of HIV-1 in plasma during all stages of infection determined by competitive PCR. *Science*. 259(5102): 1749-54
- 59WHO (2018). HIV/AIDS fact sheet. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs360/en/> (Zuletzt abgerufen am 10.11.2020)
- 60Pantaleo, G, Graziosi, C, Demarest, JF, Butini, L, Montroni, M, Fox, CH, Orenstein, JM, Kotler, DP, Fauci, AS (1993). HIV infection is active and progressive in lymphoid tissue during the clinically latent stage of disease. *Nature*. 362(6418): 355-8
- 61Embretson, J, Zupancic, M, Ribas, JL, Burke, A, Racz, P, Tenner-Racz, K, Haase, AT (1993). Massive covert infection of helper T lymphocytes and macrophages by HIV during the incubation period of AIDS. *Nature*. 362(6418): 359-62
- 62Ho, DD, Neumann, AU, Perelson, AS, Chen, W, Leonard, JM, Markowitz, M (1995). Rapid turnover of plasma virions and CD4 lymphocytes in HIV-1 infection. *Nature*. 373(6510): 123-6
- 63Castro, KG, Ward, JW, Slutsker, L, Buehler, JW, Jaffe, HW, Berkelman, RL (1992). 1993 Revised Classification System for HIV Infection and Expanded Surveillance Case Definition for AIDS Among Adolescents and Adults <https://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/00018871.htm> (Zuletzt abgerufen am 05.11.2020)
- 64Selik, RM, Mokotoff, ED, Branson, B, Owen, SM, Whitmore, S, Hall, HI (2014). Revised Surveillance Case Definition for HIV Infection — United States, 2014. <https://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/rr6303a1.htm> (Zuletzt abgerufen am 05.11.2020)
- 65Buchacz, K, Baker, RK, Palella, FJ, Jr., Chmiel, JS, Lichtenstein, KA, Novak, RM, Wood, KC, Brooks, JT, Investigators, H (2010). AIDS-defining opportunistic illnesses in US patients, 1994-2007: a cohort study. *AIDS*. 24(10): 1549-59
- 66GmbH, RLS (2018). Fachinfo-Service. <https://www.fachinfo.de/> (Zuletzt abgerufen am 13.11.2020)
- 67EACS (2020). EACS guidelines Version 10.1. [https://www.eacsociety.org/files/guidelines-10.1\\_5.pdf](https://www.eacsociety.org/files/guidelines-10.1_5.pdf) (Zuletzt abgerufen am 13.11.2020)
- 68Witvrouw, M, Pannecouque, C, Switzer, WM, Folks, TM, De Clercq, E, Heneine, W (2004). Susceptibility of HIV-2, SIV and SHIV to various anti-HIV-1 compounds: implications for treatment and postexposure prophylaxis. *Antivir Ther*. 9(1): 57-65

69Gottlieb, GS, Raugi, DN, Smith, RA (2018). 90-90-90 for HIV-2? Ending the HIV-2 epidemic by enhancing care and clinical management of patients infected with HIV-2. *Lancet HIV*. 5(7): e390-e9

70Desbois, D, Roquebert, B, Peytavin, G, Damond, F, Collin, G, Benard, A, Campa, P, Matheron, S, Chene, G, Brun-Vezinet, F, Descamps, D, French, AHIVC (2008). In vitro phenotypic susceptibility of human immunodeficiency virus type 2 clinical isolates to protease inhibitors. *Antimicrob Agents Chemother*. 52(4): 1545-8

71Raugi, DN, Smith, RA, Ba, S, Toure, M, Traore, F, Sall, F, Pan, C, Blankenship, L, Montano, A, Olson, J, Dia Badiane, NM, Mullins, JI, Kiviat, NB, Hawes, SE, Sow, PS, Gottlieb, GS, University of Washington-Dakar, HIVSG (2013). Complex patterns of protease inhibitor resistance among antiretroviral treatment-experienced HIV-2 patients from Senegal: implications for second-line therapy. *Antimicrob Agents Chemother*. 57(6): 2751-60

72Scarlatti, G, Tresoldi, E, Bjorndal, A, Fredriksson, R, Colognesi, C, Deng, HK, Malnati, MS, Plebani, A, Siccardi, AG, Littman, DR, Fenyo, EM, Lusso, P (1997). In vivo evolution of HIV-1 co-receptor usage and sensitivity to chemokine-mediated suppression. *Nat Med*. 3(11): 1259-65

73Martinson, JJ, Chapman, NH, Rees, DC, Liu, YT, Clegg, JB (1997). Global distribution of the CCR5 gene 32-basepair deletion. *Nat Genet*. 16(1): 100-3

74Palella, FJ, Jr., Delaney, KM, Moorman, AC, Loveless, MO, Fuhrer, J, Satten, GA, Aschman, DJ, Holmberg, SD (1998). Declining morbidity and mortality among patients with advanced human immunodeficiency virus infection. HIV Outpatient Study Investigators. *N Engl J Med*. 338(13): 853-60

75Rostec (2016). Nacimbio is to launch medicinal products to treat HIV/AIDS and viral hepatitis. <https://rostec.ru/en/news/4518404/> (Zuletzt abgerufen am 13.11.2020)

76EACS (2021). EACS guidelines Version 11.0 October 2021. [https://www.eacsociety.org/media/final2021eacsguidelinesv11.0\\_oct2021.pdf](https://www.eacsociety.org/media/final2021eacsguidelinesv11.0_oct2021.pdf) (Zuletzt abgerufen am 04.10.2022)

77e.V., DA-G (2020). Deutsch-österreichische Leitlinien zur antiretroviralen Therapie der HIV-1 Infektion. <https://daignet.de/site-content/hiv-leitlinien/leitlinien-1/deutsch-oesterreichische-leitlinien-zur-antiretroviralen-therapie-der-hiv-infektion> (Zuletzt abgerufen am 13.11.2020)

78Lazarus, JV, Laut, KG, Safreed-Harmon, K, Peters, L, Johnson, M, Fatkenheuer, G, Khromova, I, Vandekerckhove, L, Maciejewska, K, Radoi, R, Ridolfo, AL, Mocroft, A (2016). Disparities in HIV clinic care across Europe: findings from the EuroSIDA clinic survey. *BMC Infect Dis*. 16: 335

79Kirichenko, A, Kireev, D, Lopatukhin, A, Murzakova, A, Lapovok, I, Saleeva, D, Ladnaya, N, Gadirova, A, Ibrahimova, S, Safarova, A, Grigoryan, T, Petrosyan, A, Sarhatyan, T, Gasich, E, Bunas, A, Glinskaya, I, Yurovsky, P, Nurov, R, Soliev, A, Ismatova, L, Musabaev, E, Kazakova, E, Rakhimova, V, Pokrovsky, V (2022). Prevalence of HIV-1 drug resistance in Eastern European and Central Asian countries. *PLoS One*. 17(1): e0257731

80Perelson, AS (1999). Viral kinetics and mathematical models. *Am J Med*. 107(6B): 49S-52S

81Perelson, AS, Neumann, AU, Markowitz, M, Leonard, JM, Ho, DD (1996). HIV-1 dynamics in vivo: virion clearance rate, infected cell life-span, and viral generation time. *Science*. 271(5255): 1582-6

82Wei, X, Ghosh, SK, Taylor, ME, Johnson, VA, Emini, EA, Deutsch, P, Lifson, JD, Bonhoeffer, S, Nowak, MA, Hahn, BH, et al. (1995). Viral dynamics in human immunodeficiency virus type 1 infection. *Nature*. 373(6510): 117-22

83Roberts, JD, Bebenek, K, Kunkel, TA (1988). The accuracy of reverse transcriptase from HIV-1. *Science*. 242(4882): 1171-3

84Mansky, LM, Temin, HM (1995). Lower in vivo mutation rate of human immunodeficiency virus type 1 than that predicted from the fidelity of purified reverse transcriptase. *J Virol*. 69(8): 5087-94

85O'Neil, PK, Sun, G, Yu, H, Ron, Y, Dougherty, JP, Preston, BD (2002). Mutational analysis of HIV-1 long terminal repeats to explore the relative contribution of reverse transcriptase and RNA polymerase II to viral mutagenesis. *J Biol Chem*. 277(41): 38053-61

- 86Laboratory, LAN (2020). HIV-1 gene map. <https://www.hiv.lanl.gov/content/sequence/HIV/MAP/landmark.html> (Zuletzt abgerufen am 13.11.2020)
- 87Mansky, LM, Bernard, LC (2000). 3'-Azido-3'-deoxythymidine (AZT) and AZT-resistant reverse transcriptase can increase the in vivo mutation rate of human immunodeficiency virus type 1. *J Virol*. 74(20): 9532-9
- 88Mulder, LC, Harari, A, Simon, V (2008). Cytidine deamination induced HIV-1 drug resistance. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 105(14): 5501-6
- 89Sadler, HA, Stenglein, MD, Harris, RS, Mansky, LM (2010). APOBEC3G contributes to HIV-1 variation through sublethal mutagenesis. *J Virol*. 84(14): 7396-404
- 90Fourati, S, Malet, I, Lambert, S, Soulie, C, Wirden, M, Flandre, P, Fofana, DB, Sayon, S, Simon, A, Katlama, C, Calvez, V, Marcelin, AG (2012). E138K and M184I mutations in HIV-1 reverse transcriptase coemerge as a result of APOBEC3 editing in the absence of drug exposure. *AIDS*. 26(13): 1619-24
- 91Neogi, U, Shet, A, Sahoo, PN, Bontell, I, Ekstrand, ML, Banerjea, AC, Sonnerborg, A (2013). Human APOBEC3G-mediated hypermutation is associated with antiretroviral therapy failure in HIV-1 subtype C-infected individuals. *J Int AIDS Soc*. 16: 18472
- 92Yu, Q, Konig, R, Pillai, S, Chiles, K, Kearney, M, Palmer, S, Richman, D, Coffin, JM, Landau, NR (2004). Single-strand specificity of APOBEC3G accounts for minus-strand deamination of the HIV genome. *Nat Struct Mol Biol*. 11(5): 435-42
- 93Robertson, DL, Sharp, PM, McCutchan, FE, Hahn, BH (1995). Recombination in HIV-1. *Nature*. 374(6518): 124-6
- 94Kim, EY, Bhattacharya, T, Kunstman, K, Swantek, P, Koning, FA, Malim, MH, Wolinsky, SM (2010). Human APOBEC3G-mediated editing can promote HIV-1 sequence diversification and accelerate adaptation to selective pressure. *J Virol*. 84(19): 10402-5
- 95Domingo, E, Holland, JJ (1997). RNA virus mutations and fitness for survival. *Annu Rev Microbiol*. 51: 151-78
- 96Goudsmit, J, De Ronde, A, Ho, DD, Perelson, AS (1996). Human immunodeficiency virus fitness in vivo: calculations based on a single zidovudine resistance mutation at codon 215 of reverse transcriptase. *J Virol*. 70(8): 5662-4
- 97Hanna, GJ, Johnson, VA, Kuritzkes, DR, Richman, DD, Brown, AJ, Savara, AV, Hazelwood, JD, D'Aquila, RT (2000). Patterns of resistance mutations selected by treatment of human immunodeficiency virus type 1 infection with zidovudine, didanosine, and nevirapine. *J Infect Dis*. 181(3): 904-11
- 98Santos, AF, Soares, MA (2010). HIV Genetic Diversity and Drug Resistance. *Viruses*. 2(2): 503-31
- 99Snoeck, J, Kantor, R, Shafer, RW, Van Laethem, K, Deforche, K, Carvalho, AP, Wynhoven, B, Soares, MA, Cane, P, Clarke, J, Pillay, C, Sirivichayakul, S, Ariyoshi, K, Holguin, A, Rudich, H, Rodrigues, R, Bouzas, MB, Brun-Vezinet, F, Reid, C, Cahn, P, Brigido, LF, Grossman, Z, Soriano, V, Sugiura, W, Phanuphak, P, Morris, L, Weber, J, Pillay, D, Tanuri, A, Harrigan, RP, Camacho, R, Schapiro, JM, Katzenstein, D, Vandamme, AM (2006). Discordances between interpretation algorithms for genotypic resistance to protease and reverse transcriptase inhibitors of human immunodeficiency virus are subtype dependent. *Antimicrob Agents Chemother*. 50(2): 694-701
- 100Arion, D, Kaushik, N, McCormick, S, Borkow, G, Parniak, MA (1998). Phenotypic mechanism of HIV-1 resistance to 3'-azido-3'-deoxythymidine (AZT): increased polymerization processivity and enhanced sensitivity to pyrophosphate of the mutant viral reverse transcriptase. *Biochemistry*. 37(45): 15908-17
- 101Quan, Y, Gu, Z, Li, X, Liang, C, Parniak, MA, Wainberg, MA (1998). Endogenous reverse transcriptase assays reveal synergy between combinations of the M184V and other drug resistance-conferring mutations in interactions with nucleoside analog triphosphates. *J Mol Biol*. 277(2): 237-47
- 102Meyer, PR, Matsuura, SE, So, AG, Scott, WA (1998). Unblocking of chain-terminated primer by HIV-1 reverse transcriptase through a nucleotide-dependent mechanism. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 95(23): 13471-6

- 103 Naeger, LK, Margot, NA, Miller, MD (2002). ATP-dependent removal of nucleoside reverse transcriptase inhibitors by human immunodeficiency virus type 1 reverse transcriptase. *Antimicrob Agents Chemother.* 46(7): 2179-84
- 104 Boucher, CA, O'Sullivan, E, Mulder, JW, Ramautarsing, C, Kellam, P, Darby, G, Lange, JM, Goudsmit, J, Larder, BA (1992). Ordered appearance of zidovudine resistance mutations during treatment of 18 human immunodeficiency virus-positive subjects. *J Infect Dis.* 165(1): 105-10
- 105 Larder, BA, Kemp, SD (1989). Multiple mutations in HIV-1 reverse transcriptase confer high-level resistance to zidovudine (AZT). *Science.* 246(4934): 1155-8
- 106 Marcelin, AG, Delaugerre, C, Wirden, M, Viegas, P, Simon, A, Katlama, C, Calvez, V (2004). Thymidine analogue reverse transcriptase inhibitors resistance mutations profiles and association to other nucleoside reverse transcriptase inhibitors resistance mutations observed in the context of virological failure. *J Med Virol.* 72(1): 162-5
- 107 de Jong, JJ, Goudsmit, J, Lukashov, VV, Hillebrand, ME, Baan, E, Huismans, R, Danner, SA, ten Veen, JH, de Wolf, F, Jurriaans, S (1999). Insertion of two amino acids combined with changes in reverse transcriptase containing tyrosine-215 of HIV-1 resistant to multiple nucleoside analogs. *AIDS.* 13(1): 75-80
- 108 De Antoni, A, Foli, A, Lisziewicz, J, Lori, F (1997). Mutations in the pol gene of human immunodeficiency virus type 1 in infected patients receiving didanosine and hydroxyurea combination therapy. *J Infect Dis.* 176(4): 899-903
- 109 Lukashov, VV, Huismans, R, Jebbink, MF, Danner, SA, de Boer, RJ, Goudsmit, J (2001). Selection by AZT and rapid replacement in the absence of drugs of HIV type 1 resistant to multiple nucleoside analogs. *AIDS Res Hum Retroviruses.* 17(9): 807-18
- 110 Harada, S, Hazra, R, Tamiya, S, Zeichner, SL, Mitsuya, H (2007). Emergence of human immunodeficiency virus type 1 variants containing the Q151M complex in children receiving long-term antiretroviral chemotherapy. *Antiviral Res.* 75(2): 159-66
- 111 Mbisa, JL, Gupta, RK, Kabamba, D, Mulenga, V, Kalumbi, M, Chintu, C, Parry, CM, Gibb, DM, Walker, SA, Cane, PA, Pillay, D (2011). The evolution of HIV-1 reverse transcriptase in route to acquisition of Q151M multi-drug resistance is complex and involves mutations in multiple domains. *Retrovirology.* 8: 31
- 112 Ren, J, Esnouf, R, Garman, E, Somers, D, Ross, C, Kirby, I, Keeling, J, Darby, G, Jones, Y, Stuart, D, et al. (1995). High resolution structures of HIV-1 RT from four RT-inhibitor complexes. *Nat Struct Biol.* 2(4): 293-302
- 113 Hsiou, Y, Ding, J, Das, K, Clark, AD, Jr., Boyer, PL, Lewi, P, Janssen, PA, Kleim, JP, Rosner, M, Hughes, SH, Arnold, E (2001). The Lys103Asn mutation of HIV-1 RT: a novel mechanism of drug resistance. *J Mol Biol.* 309(2): 437-45
- 114 Das, K, Clark, AD, Jr., Lewi, PJ, Heeres, J, De Jonge, MR, Koymans, LM, Vinkers, HM, Daeyaert, F, Ludovici, DW, Kukla, MJ, De Corte, B, Kavash, RW, Ho, CY, Ye, H, Lichtenstein, MA, Andries, K, Pauwels, R, De Bethune, MP, Boyer, PL, Clark, P, Hughes, SH, Janssen, PA, Arnold, E (2004). Roles of conformational and positional adaptability in structure-based design of TMC125-R165335 (etravirine) and related non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors that are highly potent and effective against wild-type and drug-resistant HIV-1 variants. *J Med Chem.* 47(10): 2550-60
- 115 King, NM, Melnick, L, Prabu-Jeyabalan, M, Nalivaika, EA, Yang, SS, Gao, Y, Nie, X, Zepp, C, Heefner, DL, Schiffer, CA (2002). Lack of synergy for inhibitors targeting a multi-drug-resistant HIV-1 protease. *Protein Sci.* 11(2): 418-29
- 116 Mahalingam, B, Louis, JM, Reed, CC, Adomat, JM, Krouse, J, Wang, YF, Harrison, RW, Weber, IT (1999). Structural and kinetic analysis of drug resistant mutants of HIV-1 protease. *Eur J Biochem.* 263(1): 238-45
- 117 Swain, AL, Miller, MM, Green, J, Rich, DH, Schneider, J, Kent, SB, Wlodawer, A (1990). X-ray crystallographic structure of a complex between a synthetic protease of human immunodeficiency virus 1 and a substrate-based hydroxyethylamine inhibitor. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 87(22): 8805-9
- 118 Chang, MW, Torbett, BE (2011). Accessory mutations maintain stability in drug-resistant HIV-1 protease. *J Mol Biol.* 410(4): 756-60

- 119Espeseth, AS, Felock, P, Wolfe, A, Witmer, M, Grobler, J, Anthony, N, Egbertson, M, Melamed, JY, Young, S, Hamill, T, Cole, JL, Hazuda, DJ (2000). HIV-1 integrase inhibitors that compete with the target DNA substrate define a unique strand transfer conformation for integrase. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 97(21): 11244-9
- 120Hightower, KE, Wang, R, Deanda, F, Johns, BA, Weaver, K, Shen, Y, Tomberlin, GH, Carter, HL, 3rd, Broderick, T, Sigethy, S, Seki, T, Kobayashi, M, Underwood, MR (2011). Dolutegravir (S/GSK1349572) exhibits significantly slower dissociation than raltegravir and elvitegravir from wild-type and integrase inhibitor-resistant HIV-1 integrase-DNA complexes. *Antimicrob Agents Chemother*. 55(10): 4552-9
- 121Westby, M, Smith-Burchnell, C, Mori, J, Lewis, M, Mosley, M, Stockdale, M, Dorr, P, Ciaramella, G, Perros, M (2007). Reduced maximal inhibition in phenotypic susceptibility assays indicates that viral strains resistant to the CCR5 antagonist maraviroc utilize inhibitor-bound receptor for entry. *J Virol*. 81(5): 2359-71
- 122Tilton, JC, Wilen, CB, Didigu, CA, Sinha, R, Harrison, JE, Agrawal-Gamse, C, Henning, EA, Bushman, FD, Martin, JN, Deeks, SG, Doms, RW (2010). A maraviroc-resistant HIV-1 with narrow cross-resistance to other CCR5 antagonists depends on both N-terminal and extracellular loop domains of drug-bound CCR5. *J Virol*. 84(20): 10863-76
- 123Shankarappa, R, Margolick, JB, Gange, SJ, Rodrigo, AG, Upchurch, D, Farzadegan, H, Gupta, P, Rinaldo, CR, Learn, GH, He, X, Huang, XL, Mullins, JI (1999). Consistent viral evolutionary changes associated with the progression of human immunodeficiency virus type 1 infection. *J Virol*. 73(12): 10489-502
- 124Yokoyama, M, Naganawa, S, Yoshimura, K, Matsushita, S, Sato, H (2012). Structural dynamics of HIV-1 envelope Gp120 outer domain with V3 loop. *PLoS One*. 7(5): e37530
- 125Mink, M, Mosier, SM, Janumpalli, S, Davison, D, Jin, L, Melby, T, Sista, P, Erickson, J, Lambert, D, Stanfield-Oakley, SA, Salgo, M, Cammack, N, Matthews, T, Greenberg, ML (2005). Impact of human immunodeficiency virus type 1 gp41 amino acid substitutions selected during enfuvirtide treatment on gp41 binding and antiviral potency of enfuvirtide in vitro. *J Virol*. 79(19): 12447-54
- 126Lu, J, Sista, P, Giguel, F, Greenberg, M, Kuritzkes, DR (2004). Relative replicative fitness of human immunodeficiency virus type 1 mutants resistant to enfuvirtide (T-20). *J Virol*. 78(9): 4628-37
- 127Oette, M, Kaiser, R, Häussinger, D (2009). Resistenz in der HIV-Therapie - Diagnostik und Management. 2. Bremen: UNI-MED Verlag AG.
- 128Amirkhanian, YA, Kelly, JA, DiFranceisco, WJ, Kuznetsova, AV, Tarima, SS, Yakovlev, AA, Musatov, VB (2018). Predictors of HIV Care Engagement, Antiretroviral Medication Adherence, and Viral Suppression Among People Living with HIV Infection in St. Petersburg, Russia. *AIDS Behav*. 22(3): 791-9
- 129Robert-Koch-Institut (2018). HIV-Infektion /AIDS  
 RKI Ratgeber für Ärzte.  
[http://www.rki.de/DE/Content/Infekt/EpidBull/Merkblaetter/Ratgeber\\_HIV\\_AIDS.html?sessionid=AFE1FBA24B36E20FED8C8847E76FC2F6.1\\_cid390?nn=2374210](http://www.rki.de/DE/Content/Infekt/EpidBull/Merkblaetter/Ratgeber_HIV_AIDS.html?sessionid=AFE1FBA24B36E20FED8C8847E76FC2F6.1_cid390?nn=2374210)  
 (Zuletzt abgerufen am 13.11.2020)
- 130Balabanova, Y, Coker, R, Atun, RA, Drobniowski, F (2006). Stigma and HIV infection in Russia. *AIDS Care*. 18(7): 846-52
- 131Lunze, K, Raj, A, Cheng, DM, Quinn, EK, Lunze, FI, Liebschutz, JM, Briden, C, Walley, AY, Blokhina, E, Krupitsky, E, Samet, JH (2016). Sexual violence from police and HIV risk behaviours among HIV-positive women who inject drugs in St. Petersburg, Russia - a mixed methods study. *J Int AIDS Soc*. 19(4 Suppl 3): 20877
- 132Niccolai, LM, Toussova, OV, Verevchkin, SV, Barbour, R, Heimer, R, Kozlov, AP (2010). High HIV prevalence, suboptimal HIV testing, and low knowledge of HIV-positive serostatus among injection drug users in St. Petersburg, Russia. *AIDS Behav*. 14(4): 932-41
- 133Beyrer, C, Wirtz, AL, O'Hara, G, Leon, N, Kazatchkine, M (2017). The expanding epidemic of HIV-1 in the Russian Federation. *PLoS Med*. 14(11): e1002462
- 134Burchell, AN, Calzavara, LM, Orekhovskiy, V, Ladnaya, NN, Russian, HIVRN (2008). Characterization of an emerging heterosexual HIV epidemic in Russia. *Sex Transm Dis*. 35(9): 807-13

- 135Beloukas, A, Psarris, A, Giannelou, P, Kostaki, E, Hatzakis, A, Paraskevis, D (2016). Molecular epidemiology of HIV-1 infection in Europe: An overview. *Infect Genet Evol.* 46: 180-9
- 136Pyne, MT, Hackett, J, Jr., Holzmayer, V, Hillyard, DR (2013). Large-scale analysis of the prevalence and geographic distribution of HIV-1 non-B variants in the United States. *J Clin Microbiol.* 51(8): 2662-9
- 137Abecasis, AB, Wensing, AM, Paraskevis, D, Vercauteren, J, Theys, K, Van de Vijver, DA, Albert, J, Asjo, B, Balotta, C, Beshkov, D, Camacho, RJ, Clotet, B, De Gascun, C, Griskevicius, A, Grossman, Z, Hamouda, O, Horban, A, Kolupajeva, T, Korn, K, Kostrikis, LG, Kucherer, C, Liitsola, K, Linka, M, Nielsen, C, Otelea, D, Paredes, R, Poljak, M, Puchhammer-Stockl, E, Schmit, JC, Sonnerborg, A, Stanekova, D, Stanojevic, M, Struck, D, Boucher, CA, Vandamme, AM (2013). HIV-1 subtype distribution and its demographic determinants in newly diagnosed patients in Europe suggest highly compartmentalized epidemics. *Retrovirology.* 10: 7
- 138Knops, ES, E. ; Lübke, N. ; Müller, C. ; Oette, M. ; Lengauer, T. ; Feind, C. ; Kaiser, R. ; Jensen, B. ; Häussinger, D. (2015). The RESINA cohort.
- 139Lapovok, I, Laga, V, Kazennova, E, Bobkova, M (2017). HIV Type 1 Integrase Natural Polymorphisms in Viral Variants Circulating in FSU Countries. *Curr HIV Res.* 15(5): 318-26
- 140Riva, C, Romano, L, Saladini, F, Lai, A, Carr, JK, Francisci, D, Balotta, C, Zazzi, M (2008). Identification of a possible ancestor of the subtype A1 HIV Type 1 variant circulating in the former Soviet Union. *AIDS Res Hum Retroviruses.* 24(10): 1319-25
- 141Kumar, S, Stecher, G, Tamura, K (2016). MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 7.0 for Bigger Datasets. *Mol Biol Evol.* 33(7): 1870-4
- 142Perez-Parra, S, Chueca, N, Alvarez, M, Pasquau, J, Omar, M, Collado, A, Vinuesa, D, Lozano, AB, Yebra, G, Garcia, F (2017). High prevalence and diversity of HIV-1 non-B genetic forms due to immigration in southern Spain: A phylogeographic approach. *PLoS One.* 12(10): e0186928
- 143Gonzalez-Alba, JM, Holguin, A, Garcia, R, Garcia-Bujalance, S, Alonso, R, Suarez, A, Delgado, R, Cardenoso, L, Gonzalez, R, Garcia-Bermejo, I, Portero, F, de Mendoza, C, Gonzalez-Candelas, F, Galan, JC (2011). Molecular surveillance of HIV-1 in Madrid, Spain: a phylogeographic analysis. *J Virol.* 85(20): 10755-63
- 144Pineda-Pena, AC, Pingarilho, M, Li, G, Vrancken, B, Libin, P, Gomes, P, Camacho, RJ, Theys, K, Barroso Abecasis, A, Portuguese, HIVRSG (2019). Drivers of HIV-1 transmission: The Portuguese case. *PLoS One.* 14(9): e0218226
- 145Heipertz, RA, Jr., Ayemoba, O, Sanders-Buell, E, Poltavee, K, Pham, P, Kijak, GH, Lei, E, Bose, M, Howell, S, O'Sullivan, AM, Bates, A, Cervenka, T, Kuroiwa, J, Akintunde, A, Ibezim, O, Alabi, A, Okoye, O, Manak, M, Malia, J, Peel, S, Maisaka, M, Singer, D, O'Connell, RJ, Robb, ML, Kim, JH, Michael, NL, Njoku, O, Tovanabutra, S (2016). Significant contribution of subtype G to HIV-1 genetic complexity in Nigeria identified by a newly developed subtyping assay specific for subtype G and CRF02\_AG. *Medicine (Baltimore).* 95(32): e4346
- 146Dukhovlinova, E, Masharsky, A, Toussova, O, Verevchkin, S, Solovyeva, T, Meringof, M, Paintsil, E, White, E, Barbour, R, Heimer, R, Kozlov, A (2015). Two Independent HIV Epidemics in Saint Petersburg, Russia Revealed by Molecular Epidemiology. *AIDS Res Hum Retroviruses.* 31(6): 608-14
- 147Wainberg, MA, Brenner, BG (2010). Role of HIV Subtype Diversity in the Development of Resistance to Antiviral Drugs. *Viruses.* 2(11): 2493-508
- 148Clutter, DS, Jordan, MR, Bertagnolio, S, Shafer, RW (2016). HIV-1 drug resistance and resistance testing. *Infect Genet Evol.* 46: 292-307
- 149Chaplin, B, Eisen, G, Idoko, J, Onwujekwe, D, Idigbe, E, Adewole, I, Gashau, W, Meloni, S, Sarr, AD, Sankale, JL, Ekong, E, Murphy, RL, Kanki, P (2011). Impact of HIV type 1 subtype on drug resistance mutations in Nigerian patients failing first-line therapy. *AIDS Res Hum Retroviruses.* 27(1): 71-80
- 150Santos, AF, Abecasis, AB, Vandamme, AM, Camacho, RJ, Soares, MA (2009). Discordant genotypic interpretation and phenotypic role of protease mutations in HIV-1 subtypes B and G. *J Antimicrob Chemother.* 63(3): 593-9
- 151Dvali, N, Parker, MM, Chkhartishvili, N, Sharvadze, L, Gochitashvili, N, Abutidze, A, Karchava, M, DeHovitz, JA, Tsertsvadze, T (2012). Characterization of HIV-1 subtypes and

drug resistance mutations among individuals infected with HIV in Georgia. *J Med Virol.* 84(7): 1002-8

152Kolomeets, AN, Varghese, V, Lemey, P, Bobkova, MR, Shafer, RW (2014). A uniquely prevalent nonnucleoside reverse transcriptase inhibitor resistance mutation in Russian subtype A HIV-1 viruses. *AIDS.* 28(17): F1-8

153Maldonado, JO, Mansky, LM (2018). The HIV-1 Reverse Transcriptase A62V Mutation Influences Replication Fidelity and Viral Fitness in the Context of Multi-Drug-Resistant Mutations. *Viruses.* 10(7):

154Shafer, RW, Kozal, MJ, Winters, MA, Iversen, AK, Katzenstein, DA, Ragni, MV, Meyer, WA, 3rd, Gupta, P, Rasheed, S, Coombs, R, et al. (1994). Combination therapy with zidovudine and didanosine selects for drug-resistant human immunodeficiency virus type 1 strains with unique patterns of pol gene mutations. *J Infect Dis.* 169(4): 722-9

155Shirasaka, T, Kavlick, MF, Ueno, T, Gao, WY, Kojima, E, Alcaide, ML, Choekijchai, S, Roy, BM, Arnold, E, Yarchoan, R, et al. (1995). Emergence of human immunodeficiency virus type 1 variants with resistance to multiple dideoxynucleosides in patients receiving therapy with dideoxynucleosides. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 92(6): 2398-402

156Huang, W, Gamarnik, A, Limoli, K, Petropoulos, CJ, Whitcomb, JM (2003). Amino acid substitutions at position 190 of human immunodeficiency virus type 1 reverse transcriptase increase susceptibility to delavirdine and impair virus replication. *J Virol.* 77(2): 1512-23

157Knops, E, Schülter, E, Lübke, N, Oette, M, Fätkenheuer, G, Hower, M, Knechten, H, Mutz, A, Esser, S, Scholten, S, Häussinger, D, Kaiser, R, Jensen, B (2015). The RESINA data support the individualized therapy based on primary resistance testing. *Reviews in Antiviral Therapy & Infectious Diseases.* 2015(5): 66-7

158Schultze, A, Phillips, AN, Paredes, R, Battegay, M, Rockstroh, JK, Machala, L, Tomazic, J, Girard, PM, Januskevica, I, Gronborg-Laut, K, Lundgren, JD, Cozzi-Lepri, A, Euro, SiE (2015). HIV resistance testing and detected drug resistance in Europe. *AIDS.* 29(11): 1379-89

159De Luca, A, Dunn, D, Zazzi, M, Camacho, R, Torti, C, Fanti, I, Kaiser, R, Sonnerborg, A, Codoner, FM, Van Laethem, K, Vandamme, AM, Bansi, L, Ghisetti, V, van de Vijver, DA, Asboe, D, Prosperi, MC, Di Giambenedetto, S, Chain, Sci (2013). Declining prevalence of HIV-1 drug resistance in antiretroviral treatment-exposed individuals in Western Europe. *J Infect Dis.* 207(8): 1216-20

160Davy-Mendez, T, Eron, JJ, Brunet, L, Zakharova, O, Dennis, AM, Napravnik, S (2018). New antiretroviral agent use affects prevalence of HIV drug resistance in clinical care populations. *AIDS.* 32(17): 2593-603

161Rossetti, B, Di Giambenedetto, S, Torti, C, Postorino, MC, Punzi, G, Saladini, F, Gennari, W, Borghi, V, Monno, L, Pignataro, AR, Polilli, E, Colafigli, M, Poggi, A, Tini, S, Zazzi, M, De Luca, A, Antiviral Response Cohort Analysis Collaborative, G (2018). Evolution of transmitted HIV-1 drug resistance and viral subtypes circulation in Italy from 2006 to 2016. *HIV Med.* 19(9): 619-28

162Franzetti, M, De Luca, A, Ceccherini-Silberstein, F, Spagnuolo, V, Nicastri, E, Mussini, C, Antinori, A, Monno, L, Vecchiet, J, Fanti, I, d'Arminio Monforte, A, Balotta, C, Group, IFS (2018). Evolution of HIV-1 transmitted drug resistance in Italy in the 2007-2014 period: A weighted analysis. *J Clin Virol.* 106: 49-52

## 6. Anhang

### 6.1 Abbildungsverzeichnis

Abb.1: HIV-Prävalenz 2019 nach Region, nach UNAIDS: <https://aidsinfo.unaids.org/>, [letzter Zugriff 19.11.2022 12:43](#)

Abb. 2: HIV-Neuinfektionen 2019, nach UNAIDS: <https://aidsinfo.unaids.org/>, letzter Zugriff 19.11.2022 12:38

Abb. 3: Aufbau HIV-Virion, <https://www.hivbook.com/tag/structure-of-hiv-1/>, letzter Zugriff 05.11.2022 12:07

Abb. 4: HIV-1 Genom, LosAlamos sequence database, <https://www.hiv.lanl.gov/content/sequence/HIV/MAP/landmark.html>, letzter Zugriff 19.11.2022 12:07

Abb. 5: Replikationszyklus HIV, <https://www.nature.com/articles/nrmicro3351/figures/1>, letzter Zugriff 19.11.2022 12:08

Abb. 6: Verlauf Infektion, <https://www.medlab-oldenburg.de/analytik/fachinfos/infektionsserologie/hiv/2.-diagnostik-und-monitoring/> Letzter Zugriff 22.10.2022 12:10

Abb. 7: Screenshot geno2pheno, <https://www.geno2pheno.org/>

### 6.2 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: CDC Klassifikation 1993, <https://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/00018871.htm>, letzter Zugriff 16.11.2022 11:40

Tabelle 2: Klinische Kategorien der CDC-Klassifikation 1993, <https://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/00018871.htm>, letzter Zugriff 16.11.2022 11:41

Tabelle 3: CDC-Klassifikation 2014, [https://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/rr6303a1.htm?s\\_cid=rr6303a1\\_e](https://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/rr6303a1.htm?s_cid=rr6303a1_e), letzter Zugriff 16.11.2022 11:42

Tabelle 4: Zugelassene NRTIs und NNRTIs, [https://www.aidshilfe.de/sites/default/files/documents/aktuelle\\_liste\\_der\\_antiretroviralen\\_medikamente\\_2021\\_11\\_02.pdf](https://www.aidshilfe.de/sites/default/files/documents/aktuelle_liste_der_antiretroviralen_medikamente_2021_11_02.pdf), letzter Zugriff 13.11.2022 13:34

Tabelle 5: Zugelassene INIs, [https://www.aidshilfe.de/sites/default/files/documents/aktuelle\\_liste\\_der\\_antiretroviralen\\_medikamente\\_2021\\_11\\_02.pdf](https://www.aidshilfe.de/sites/default/files/documents/aktuelle_liste_der_antiretroviralen_medikamente_2021_11_02.pdf), letzter Zugriff 13.11.2022 13:34

Tabelle 6: Zugelassene PIs und Booster,

[https://www.aidshilfe.de/sites/default/files/documents/aktuelle\\_liste\\_der\\_antiretroviralen\\_medikamente\\_2021\\_11\\_02.pdf](https://www.aidshilfe.de/sites/default/files/documents/aktuelle_liste_der_antiretroviralen_medikamente_2021_11_02.pdf), letzter Zugriff 13.11.2022 13:34

Tabelle 7: Zugelassene Entry-Inhibitoren,

[https://www.aidshilfe.de/sites/default/files/documents/aktuelle\\_liste\\_der\\_antiretroviralen\\_medikamente\\_2021\\_11\\_02.pdf](https://www.aidshilfe.de/sites/default/files/documents/aktuelle_liste_der_antiretroviralen_medikamente_2021_11_02.pdf), letzter Zugriff 13.11.2022 13:34

Tabelle 8: nicht mehr genutzte oder zugelassene Medikamente,

[https://www.aidshilfe.de/sites/default/files/documents/aktuelle\\_liste\\_der\\_antiretroviralen\\_medikamente\\_2021\\_11\\_02.pdf](https://www.aidshilfe.de/sites/default/files/documents/aktuelle_liste_der_antiretroviralen_medikamente_2021_11_02.pdf), letzter Zugriff 13.11.2022 13:34

Tabelle 9: Kombinationspräparate,

[https://www.aidshilfe.de/sites/default/files/documents/aktuelle\\_liste\\_der\\_antiretroviralen\\_medikamente\\_2021\\_11\\_02.pdf](https://www.aidshilfe.de/sites/default/files/documents/aktuelle_liste_der_antiretroviralen_medikamente_2021_11_02.pdf), letzter Zugriff 13.11.2022 13:34

Tabelle 10: Major NRTI Resistenzmutationen, <https://hivdb.stanford.edu/dr-summary/resistance-notes/NRTI/>, letzter Zugriff 12.11.2022 12:03

Tabelle 11: Major NNRTI-Resistenzmutationen, <https://hivdb.stanford.edu/dr-summary/resistance-notes/NNRTI/>, letzter Zugriff 12.11.2022 12:03

Tabelle 12: Major PR-Resistenzmutationen, <https://hivdb.stanford.edu/dr-summary/resistance-notes/PI/>, letzter Zugriff 12.11.2022 12:04

Tabelle 13: IN-Resistenzmutationen, <https://hivdb.stanford.edu/dr-summary/resistance-notes/INSTI/>, letzter Zugriff 12.11.2022 12:05