

# СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ЭФФЕКТИВНОСТИ ПЦР-ТЕСТ-СИСТЕМ ДЛЯ ГЕНОТИПИРОВАНИЯ ВАРИАНТОВ ВИРУСА ГЕПАТИТА С, РАСПРОСТРАНЁННЫХ НА ТЕРРИТОРИИ ПРИМОРСКОГО КРАЯ

Р.В. Омельченко<sup>1,2</sup>, Ю.А. Белов<sup>1</sup>, П.Г. Милованкин<sup>1</sup>, М.В. Павлюк<sup>3</sup>, Т.С. Ситдикова<sup>3</sup>, А.И. Симаков<sup>4</sup>, О.Б. Романова<sup>2</sup>, М.Ю. Щелканов<sup>1,5</sup>

<sup>1</sup>ФГБНУ «НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Г.П. Сомова» Роспотребнадзора, Владивосток, Российская Федерация;

<sup>2</sup>ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Приморском крае», Владивосток, Российская Федерация;

<sup>3</sup>ФБУЗ «Краевая клиническая инфекционная больница», Владивосток, Россия;

<sup>4</sup>Тихоокеанский государственный медицинский университет, Владивосток, Российская Федерация;

<sup>5</sup>Дальневосточный федеральный университет, Владивосток, Российская Федерация

Проведён сравнительный анализ эффективности двух коммерческих наборов ПЦР-тест-систем: «Поливир HCV генотип» и «АмплиСенс HCV-генотип-FL», предназначенных для генотипирования вируса гепатита С (Amarillovirales: Flaviviridae, Hepacivirus). В работе использованы образцы сыворотки крови, полученные от пациентов из Приморского края, которые состоят на учёте с хроническим гепатитом С.

**Ключевые слова:** вирус гепатита С, Flaviviridae, Hepacivirus, полимеразная цепная реакция, генотипирование, Приморский край.

## COMPARATIVE ANALYSIS OF THE EFFECTIVENESS OF PCR TEST SYSTEMS FOR GENOTYPING HEPATITIS C VIRUS VARIANTS DISTRIBUTED ON THE TERRITORY OF PRIMORSKY KRAI

R.V. Omelchenko<sup>1,2</sup>, Yu.A. Belov<sup>1</sup>, P.G. Milovankin<sup>1</sup>, M.V. Pavlyuk<sup>3</sup>, T.S. Sitdikova<sup>3</sup>, A.I. Simakova<sup>4</sup>, O.B. Romanova<sup>2</sup>, M.Yu. Shchelkanov<sup>1,5</sup>

<sup>1</sup>G.P. Somov Institute of Epidemiology and Microbiology, Russian Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing, Vladivostok, Russia;

<sup>2</sup>Center for Hygiene and Epidemiology in Primorsky krai, Vladivostok, Russia;

<sup>3</sup>Regional Clinical Infectious Diseases Hospital, Vladivostok, Russia;

<sup>4</sup>Pacific Medical University, Vladivostok, Russia;

<sup>5</sup>Far Eastern Federal University, Vladivostok, Russia.

A comparative analysis of the effectiveness of two commercial sets of PCR test systems has been carried out: "Polyvir HCV genotype" and "AmpliSens HCV-genotype-FL" designed for genotyping hepatitis C virus (Amarillovirales: Flaviviridae, Hepacivirus). The work uses blood serum samples obtained from patients who are registered with chronic hepatitis C in the Primorsky krai.

**Keywords:** hepatitis C virus, Flaviviridae, Hepacivirus, polymerase chain reaction, genotyping, Primorsky krai.

Вирус гепатита С (ВГС) (Amarillovirales: Flaviviridae, Hepacivirus) продолжает оставаться широко распространённой и актуальной проблемой не только для здравоохранения и медицинской науки [1, 11, 15], но и для всего человеческого общества в целом [19]. Несмотря на свое название, ВГС может приводить не только к непосредственным поражениям печени, таким, как

цирроз печени (ЦП) или гепатоцеллюлярная карцинома (ГЦК), но и также к внепеченочным коморбидным проявлениям [2, 8, 12, 16].

Геном ВГС представлен одноцепочечной линейной РНК позитивной полярности протяжённостью 9436 н.о., кодирующей единственную открытую рамку считывания для белка-предшественника, ко- и пост-трансляционный процессинг которого приводит к появлению как структурных (входящих в состав вириона: CP, E1, E2), так и неструктурных (регуляторных: p7, NS2, NS3, NS4A, NS5A и B) белков. Геном ВГС содержит как консервативные, так и высоковариабельные участки: 5'-UTR и 3'-UTR обладают высокой степенью постоянства; напротив, E2 содержит гипервариабельные участки HVR1 и HVR2. Консервативные области CP, E1 и NS5B используются для определения генотипов и подтипов вируса [9, 13]. Нуклеотидные последовательности генотипов отличаются друг от друга примерно на 30-35 %, а подтипов – на 10-20 % [4, 13, 18]. В настоящее время, на основе филогенетического анализа полногеномных нуклеотидных последовательностей изоляты ВГС классифицируются на 8 генотипов, названных в порядке их обнаружения, 6 из которых имеют эпидемиологическое и клиническое значение [5, 14, 16]. Каждый основной генотип дополнительно классифицируется на 105 субтипов, обозначаемых буквами: 1a, 1b, 2a, 2b, 3a и т.д. [17].

В разных географических регионах часто циркулируют специфические генетические варианты. Доминантными являются генотипы 1 и 3, которые в разной степени представлены во всех географических регионах мира, составляя 46 % и 30,1 %, соответственно, всех случаев инфицирования. Генотипы 2, 4 и 6 имеют ограниченное географическое распределение, на их долю приходится большая часть оставшихся случаев инфицирования, с распространённостью, оцениваемой в 9,1%, 8,3% и 5,4%. Генотип 2 демонстрирует самую высокую распространённость в Азии и Центральной Африке. Распространённость генотипов 4 и 5 увеличилась в связи с эмиграцией с Ближнего Востока и Африки и распространением специфических подтипов в популяциях потребителей наркотиков, вводимых внутривенно. Частота встречаемости генотипа 4 наиболее высока в Центральной Африке и на Ближнем Востоке, тогда как генотип 5 достигает более высокой частоты распространения только в Южной Африке. Генотип 6 присутствует с наибольшей частотой в Восточной и Юго-Восточной Азии, и является доминирующим генотипом в Лаосе и Вьетнаме. В Демократической Республике Конго был идентифицирован 7-ой генотип ВГС среди инфицированных лиц, а у лиц, инфицированных из штата Пенджаб (Индия), был обнаружен 8-ой генотип ВГС [4, 14, 18]. В конце прошлого столетия во многих субъектах Российской Федерации доминировал генотип 1b [3]. На сегодняшний день, преобладают генотипы 1b (52,9 %) и 3 (36,3 %) [7, 10]. Среди 9 известных межгенотипных рекомбинантных форм, в настоящее время, наиболее распространена и имеет эпидемиологическое значение RF2k/1b, структурная часть генома которого образована субтипом 2k, а неструктурная – субтипом 1b [6, 15].

**Цель настоящего исследования** заключалась в проведении сравнительного анализа эффективности различных ПЦР-тест-систем для генотипирования вариантов вируса гепатита С, характерных для Приморского края.

#### **Материалы и методы исследования**

Исследование проводилось на базе ФГБНУ «Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Г.П. Сомова» Роспотребнадзора. Сто образцов сывороток крови были получены в 2024 г. из Приморского краевого центра вирусных гепатитов и патологии печени ГБУЗ «Краевая клиническая инфекционная больница» от пациентов с клинически подтвержденным хроническим гепатитом С. Все образцы сывороток крови хранились в криопробирках при температуре до – 24 °С. Индикацию РНК ВГС проводили с помощью набора реагентов для выявления и дифференциации генотипов этого вируса методом ПЦР с обратной транскрипцией согласно инструкциям производителей: «Поливи́р HCV генотип» (Литех, Россия) и «АмплиСенс HCV-генотип-FL» (ЦНИИЭ, Россия). Для выделения РНК из клинического материала использовался комплект реагентов «Рибо-преп» (ЦНИИЭ, Россия), а для получения кДНК на матрице РНК был использован комплект реагентов «Реверта-Л» (ЦНИИЭ, Россия). Амплификацию нуклеиновых кислот проводили на амплификаторе детектирующем ДТ-Прайм (ДНК-Технология, Россия).

#### **Результаты и обсуждение**

По итогам проведенных анализов были получены следующие результаты: не удалось определить генотип ВГС при использовании набора реагентов «Поливи́р HCV генотип» в 3 образцах (3 %), хотя один из этих образцов удалось генотипировать при помощи набора «АмплиСенс HCV-генотип-FL». При использовании набора реагентов для выявления и дифференциации генотипов ВГС «АмплиСенс HCV-генотип-FL» определить генотип ВГС удалось только в 77 образцах (77 %). В одном образце результаты генотипирования оказались различными при использовании разных тест-систем: «Поливи́р HCV генотип» выявил генотип 3, «АмплиСенс HCV-генотип-FL» – генотип 1b. Следует отметить, что ранее пациент, которому принадлежал данный образец, при постановке на учёт в Приморский краевой центр вирусных гепатитов и патологии печени предоставил сведения о наличии генотипа 3 ВГС. В 8 образцах с помощью «Поливи́р HCV генотип» удалось обнаружить одновременно два генотипа (1b и 3) в одном и том же

образце, однако при тестировании этих же образцов «АмплиСенс HCV-генотип-FL» в 2 образцах генотип не был определён, а в 6 из них – обнаружен генотип 3а.

Таким образом, выявление и генотипирование ВГС методом ПЦР является быстрым и удобным методом диагностики, однако для окончательных выводов необходимо проведение секвенирования полноразмерного генома вируса.

### **Литература**

1. Беседнова Н.Н., Андрюков Б.Г., Запорожец Т.С. и др. Оболочечные вирусы – патогенетическая мишень лектинов цианобактерий // Антибиотики и химиотерапия. – 2022. – Т.67, №5-6. – С. 39-60.
2. Беседнова Н.Н., Запорожец Т.С., Ермакова С.П. и др. Природные соединения – потенциальная основа средств профилактики и терапии гепатита С // Антибиотики и химиотерапия. – 2023. – Т.68, №11-12. – С. 75-90.
3. Дземова А.А., Ганченко Р.А., Трифонова Г.Ф. и др. Хронический гепатит Св Российской Федерации после начала программы элиминации HCV-инфекции // Гепатология и гастроэнтерология. – 2020. – Т.4, №2. – С. 165-170.
4. Иванов А.В., Кузякин А.О., Кочетков С.Н. Молекулярная биология вируса гепатита С // Успехи биологической химии. – 2005. – № 45. – С. 37-86.
5. Котова В.О., Балахонцева Л.А., Базыкина Е.А. и др. Генетическое разнообразие вируса гепатита С среди населения Нанайского района Хабаровского края // Инфекция и иммунитет. – 2021. – Т.11, №1. – С. 148-156.
6. Кочнева Г.В., Карташов М.Ю., Кривошеина Е.И. и др. О возможности искоренения гепатита С в России // Молекулярная генетика, микробиология и вирусология. – 2021. – Т.39, №1. – С. 31-41.
7. Лиознов Д.А., Дунаева Н.В., Чунг Н.Х. и др. Хронический гепатит С: современное состояние проблемы // Нефрология. – 2019. – Т.23, №4. – С.36-46.
8. Мамедов М.К., Михайлов М.И. Основные направления и этапы изучения вируса гепатита С и вызываемой им инфекции и важнейшие достижения в борьбе с вирусным гепатитом С // Биомедицина (Баку). – 2019. – Т.17, №3. – С. 4-17.
9. Медицинская вирусология / Ред.: Д.К. Львов. М.: Мед.информ. агенство (МИА), 2008 - 655 с.
10. Омельченко Р.В., Ручко И.А., Абашина В.Л. Заболеваемость парентеральными вирусными гепатитами на территории Приморского края в 2011-2021 году // В сб.: Санитарно-эпидемиологический щит Дальнего Востока: результаты деятельности, взгляд в будущее: сборник статей Всероссийской научно-практической конференции с международным участием, посвященной 100-летию со дня образования государственной санитарно-эпидемиологической службы России. Владивосток – 2022. – С. 75-80.
11. Омельченко Р.В., Щелканов М.Ю. Эпидемиология вирусного гепатита Св Приморском крае // Дальневосточный журнал инфекционной патологии. – 2023. – №45. – С.133-134.
12. Патлусов Е.П., Валамина И.Е., Кузнецов П.Л. и др. Особенности нарушения липидного и углеводного обмена у больных хроническим гепатитом Св зависимости от генотипа // Медицинский вестник Башкортостана. – 2019. – Т.14, №5. – С. 23-30.
13. Руководство по вирусологии. Вирусы и вирусные инфекции человека и животных / Ред.: Д.К. Львов. М.: Мед.информ. агенство (МИА), 2013 - 1200 с.
14. Borgia S.M., Hedskog C., Parhy B., et al. Identification of a novel Hepatitis C virus genotype from Punjab, India: Expanding classification of Hepatitis C virus into 8 genotypes // J. Infect. Dis. – 2018. – V.218, N11. – P. 1722-1729.
15. Coppola N., Minichini C., Starace M., et al. Clinical impact of the hepatitis C virus mutations in the era of directly acting antivirals // J. Med. Virol. – 2016. – V.88, N10. – P. 1659-1671.
16. Galli A., Bukh J. Mechanisms and consequences of genetic variation in hepatitis C virus (HCV) // Curr. Top. Microbiol. Immunol. – 2023. – N439. – P. 237-264.
17. Martinez M.A., Franco S. Therapy implications of Hepatitis C virus genetic diversity // Viruses. – 2020. – V.13, N1. –P. 41.
18. Tsukiyama-Kohara K., Kohara M. Hepatitis C virus: Viral quasispecies and genotypes // Int. J. Mol. Sci. – 2017. – V.19, N1. – P.23.
19. WHO. Global health sector strategies on, respectively, HIV, viral hepatitis and sexually transmitted infections for the period 2022-2030 // 2022; URL: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240053779>

### **Сведения об ответственном авторе:**

**Омельченко Роман Владимирович** – аспирант ФГБНУ «НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Г.П. Сомова» Роспотребнадзора; врач-эпидемиолог ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Приморском крае», Владивосток, Россия; тел.: +7 (914) 973-1074; e-mail: romel2410@mail.ru.

---