

УДК:578.891:578.5:616-052]:001.891(571.64)

ГЕНЕТИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ ВИРУСОВ ГЕПАТИТОВ В И С СРЕДИ НАСЕЛЕНИЯ САХАЛИНСКОЙ ОБЛАСТИ

В.О. Котова¹, Е.А. Базыкина¹, Л.А. Балахонцева¹, О.Е. Троценко¹,
О.А. Фунтусова², Е.А. Ломакина³

¹ФБУН Хабаровский НИИ эпидемиологии и микробиологии Роспотребнадзора, г. Хабаровск, Россия;

²Управление Роспотребнадзора по Сахалинской области, г. Южно-Сахалинск, Россия;

³ГБУЗ «Сахалинский областной центр по профилактике и борьбе со СПИ-Дом», г. Южно-Сахалинск, Россия

Проведен серологический и молекулярно-генетический анализ 39 образцов сыворотки/плазмы крови от пациентов с диагнозом хронический вирусный гепатит, проживающих на территории Сахалинской области. ДНК HBV обнаружена в 7 из 18 образцов плазмы крови пациентов с выявленными маркерами вируса гепатита В. Среди исследованных образцов генотип D HBV обнаружен в 5 случаях и представлен тремя субгенотипами D1, D2, D3. На долю субтипа А пришлось 2 из 7 образцов. РНК HCV была обнаружена в 24 из 32 (68,6±5,5%) образцах плазмы крови с положительным результатом ИФА на наличие антител (Ig G+IgM) к вирусному гепатиту С. Молекулярно-генетическое исследование вируса гепатита С, циркулирующего на территории Сахалинской области, выявило циркуляцию субтипов 1a, 1b, 2a, 3a с преобладанием субтипа 3a.

Ключевые слова: Сахалинская область, вирус гепатита С, вирус гепатита В, генотип, субтип, рекомбинантная форма, хронический гепатит, филогенетический анализ

GENETIC DIVERSITY OF HEPATITIS B AND C VIRUSES AMONG POPULATION OF THE SAKHALIN OBLAST

V.O. Kotova¹, E.A. Bazykina¹, L.A. Balakhontseva¹, O.E. Trotsenko¹, O.A.Funtusova², E.A. Lomakina³

¹FBUN Khabarovsk research institute of epidemiology and microbiology of the Federal service for surveillance on consumers rights protection and human wellbeing (Rospotrebnadzor), Khabarovsk, Russia;

²Regional Rospotrebnadzor office in the Sakhalin oblast, Yuzhno-Sakhalinsk, Russia;

³Sakhalin Regional AIDS Center, Yuzhno-Sakhalinsk, Russia

Serological and molecular-genetic analysis was performed for 39 samples of blood serum/plasma obtained from patients diagnosed with chronic viral hepatitis residing in the territory of the Sakhalin oblast. HBV DNA was revealed in 7 out of 18 samples of blood plasma of the patients with revealed serological markers of hepatitis B virus. HBV genotype D including subgenotypes D1, D2, D3 was detected in 5 samples. HBV subtype A was revealed in 2 out of 7 samples. HCV RNA was isolated in 24 out of 32 (68.6±5.5%) blood plasma samples positive for HCV antibodies that were detected with ELISA. Molecular-genetic survey of hepatitis C virus revealed circulation of subtypes 1a, 1b, 2a and 3a with predominance of subtype 3a.

Key words: Sakhalin oblast, hepatitis C virus, hepatitis B virus, genotype, subtype, recombinant forms, chronic hepatitis, phylogenetic analysis

Вирусные гепатиты продолжают оставаться острой проблемой для здравоохранения всего мира. По оценкам ВОЗ, в 2019 г. 296 миллионов человек жили с хроническим гепатитом В (ХГВ) и 58 миллионов человек – с хроническим вирусным гепатитом С (ХГС). От ХГВ и ХГС за 2019 г. умерло 820 000 и 290 000 человек соответственно. Основными причинами летальных исходов являются развитие гепатоцеллюлярной карциномы и цирроза печени. Несмотря на существование высокоэффективной специфической иммунопрофилактики вирусного гепатита В, только в 2019 г. число впервые инфицированных в мире лиц составило порядка 1,5 миллионов человек, такой же показатель был зарегистрирован и для первично инфицированных вирусным гепатитом С [1].

Несмотря на снижение случаев выявления острых форм парентеральных вирусных гепатитов, регистрация хронических форм вирусных гепатитов (ХВГ) остается на высоком уровне. Согласно данным, опубликованным в государственном докладе «О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2022 году», в 2022 г. выявлено более 43,3 тыс. случаев хронического вирусного гепатита (в 2021 г. – 30,7 тыс. случаев). Увеличение за год произошло на 41,4 %. Заболеваемость ХВГ (впервые установленные случаи) в 2022 г. среди совокупного населения составила 29,72 на 100 тыс. населения, что в 1,6 раза ниже среднееголетнего показателя (СМП8,47 на 100 тыс. населения), а в возрастной группе до 17 лет – 1,29 сл. на 100 тыс. детского населения [3].

В последнее время большое внимание уделяется генотипической вариабельности вирусов гепатитов. Заболевания, вызванные различными генотипами, могут значительно отличаться по клиническому течению и исходам. Кроме того, генотипическое разнообразие вирусов гепатитов В и С связано с географической и этнической зоной распространённости, что имеет огромное значение для анализа эпидемиологической обстановки, контроля миграции инфекции с других регионов и стран мира.

В настоящее время идентифицированы 10 генотипов вируса гепатита В (HBV), обозначаемых буквами от А до J. Генотипы А-D, F, H и I распределены на 35 субгенотипов (для остальных генотипов субтипы не установлены) [18]. Генотипы отличаются длиной генома, размером открытого для чтения региона и трансляцией белка, а также развивающимися под влиянием терапии мутациями [16,17]. Изоляты вируса гепатита С (HCV) подразделяют на 8 генотипов и 93 подтвержденных субтипов [14,15]. Для каждого геноварианта характерна определенная частота встречаемости и географическая зона распространения.

В последние годы все чаще регистрируются рекомбинантные формы HBV и HCV, возникающие при инфицировании вирусами гепатитов различных генотипов. Большинство рекомбинантных форм HBV (60%) представляют собой рекомбинанты генотипов В/С и С/Д, однако были выявлены также варианты А/В/С, А/С, А/С/Г, А/Д, А/Е, А/Г, В/С/У (У=неизвестный генотип), С/Г, С/Г, С/Д, Д/Е, Д/Г, F/Г [22,23]. Современная классификация HCV включает 9 межгенотипных рекомбинантных форм [15]. Изучение рекомбинации вирусов имеет большое значение в клинической практике, поскольку такие варианты вируса могут сочетать в себе разные свойства родительских генотипов, в том числе в плане ответа на интерфероновую терапию [7].

Изучение распространения генотипов HCV на территориях Российской Федерации проводится с середины 1990-х гг. [8]. По результатам молекулярно-генетических исследований установлено, что на территории Российской Федерации доминируют генотипы 1в и 3а [9-12]. Несмотря на проводимые исследования, данные о распределении генотипов на отдельных территориях Российской Федерации весьма ограничены, особенно это касается отдаленных районов Дальнего Востока.

Определение генотипической принадлежности HCV играет важную роль при выборе тактики проводимой терапии. Известно, что пациенты, инфицированные HCV субтипа 1b, хуже отвечают, как на терапию пегелированным интерфероном и рибавирином, так и на терапию некоторыми препаратами прямого противовирусного действия, по сравнению с пациентами, инфицированными HCV генотипов 2 и 3 [6].

Исследования распространения генотипов HBV на территориях России немногочисленны. По результатам молекулярно-генетических исследований, проводимых в стране, установлено, что на территории Российской Федерации циркулируют 3 генотипа вируса гепатита В (D, A, C) с доминированием генотипа D субтипа D2. Геноварианты вируса А и С имеют меньшую частоту встречаемости [2,4, 5, 13].

Изучение генотипа D HBV выявило его связь с более тяжелыми клиническими исходами, такими как цирроз печени и гепатоцеллюлярная карцинома (ГЦК), а также с более низким ответом на лечение альфа-интерфероном. Кроме этого, пациенты с острой формой гепатита В (ОГВ), инфицированные генотипом D, имеют более высокий уровень хронизации, чем пациенты, инфицированные генотипами В и С [19].

Анализ филогенетических взаимоотношений изолятов HBV и HCV внутри географических регионов и/или групп пациентов оказывается неоценимым инструментом в исследовании молекулярной эволюции, закономерностей распространения вируса и способов его передачи. В последние годы наблюдается тенденция к смещению распространенности тех или иных геновариантов HBV в различных географических ареалах. Все чаще выявляются «чуждые» для тех или иных территорий субгенотипы, происходящие из стран с высокой распространенностью вирусных гепатитов и зависящие от иммиграционных потоков.

Цель работы: провести анализ генетического разнообразия вирусов гепатитов В (HBV) и С (HCV), циркулирующих среди населения Сахалинской области.

Материалы и методы

При анализе заболеваемости использованы данные форм государственного статистического наблюдения №№ 1,2 «Сведения об инфекционных и паразитарных заболеваниях», а также материал,

представленный Управлением Роспотребнадзора по Сахалинской области по запросу ФБУН Хабаровский НИИ эпидемиологии и микробиологии Роспотребнадзора. Проведён ретроспективный эпидемиологический анализ заболеваемости вирусным гепатитом С (ВГС) и вирусным гепатитом В (ВГВ) на территории Сахалинской области.

Доверительные интервалы (95% ДИ) показателей заболеваемости хроническими вирусными гепатитами (ХГВ и ХГС) среди общего населения региона рассчитывались методом углового преобразования Фишера. Для проведения анализа многолетней динамики заболеваемости ХГВ и ХГС проводился расчет тенденций с использованием метода наименьших квадратов. Выраженность тенденции оценивалась в соответствии с критериями, предложенными В.Д. Беляковым и соавт. (1981): при темпе прироста/убыли от 0 до 1,0% динамика отсутствовала, от 1 до 5% - была умеренной, более 5,0% - тенденция считалась выраженной.

С целью изучения генетического разнообразия вирусов гепатитов В и С, циркулирующих среди населения Сахалинской области, исследованы образцы плазмы/сыворотки крови от 39 пациентов с диагнозом хронический вирусный гепатит, собранные на базе ГБУЗ «Сахалинский областной центр по профилактике и борьбе со СПИДом». Среди обследованных было 26 женщин (66,7±7,6%) и 13 мужчин (33,3±7,6%). Средний возраст пациентов составил 47 лет.

Все образцы протестированы на наличие маркеров вирусных гепатитов В и С методом иммуноферментного анализа (ИФА) с помощью тест-систем производства ЗАО «Вектор-Бест», согласно инструкциям производителя.

Выделение нуклеиновых кислот из 100 мкл плазмы крови осуществляли с использованием комплекта реагента «АмплиПрайм РИБО-преп» (ФБУН Центральный НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва), согласно инструкции производителя. Первичный анализ на выявление ДНК HBV, РНК HCV, определение вирусной нагрузки в положительных пробах и генотипа HCV проводили методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с гибридизационно-флуоресцентной детекцией в режиме «реального времени» на коммерческих наборах «АмплиСенс® HBV-FL», «АмплиСенс®HBV-Монитор-FL», «АмплиСенс® HCV-FL», «АмплиСенс®HCV-Монитор-FL», «АмплиСенс -1/2/3» (ФБУН Центральный НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва), согласно инструкциям производителя.

Для генотипирования HBV использовали метод двухступенчатой ПЦР со специфическими праймерами («Синтол», Россия) к консервативному участку перекрывающихся генов S и P, кодирующих поверхностный белок и ДНК-полимеразу HBV, взятыми из литературных источников [7]. Для 20 РНК ВГС-положительных образцов с целью получения нуклеотидных последовательностей фрагментов областей NS5b генома HCV проведена двухступенчатая ПЦР со специфическими праймерами («Синтол», Россия) к данным участкам генома, взятыми из литературных источников [20].

Для определения нуклеотидной последовательности анализируемых фрагментов вирусного генома проводили прямое секвенирование ампликонов на ДНК-анализаторе модели 3500 (Applied Biosystems/Life Technologies, США). Секвенирование осуществляли с помощью набора BigDye®Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kits (AppliedBiosystems/LifeTechnologies, США) согласно протоколу производителя. Для выравнивания полученных нуклеотидных последовательностей использовалась программа BioEdit v.7.1.9. Для идентификации близкородственных штаммов HBV и HCV полученные нуклеотидные последовательности анализировались в программе BLAST (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST>).

Филогенетический анализ выполняли с помощью программы MEGA версии 6.0, путем построения филогенетических деревьев методом «ближайших соседей» (neighbor joining) [21]. Нуклеотидные дистанции рассчитывали по методу Кимуры. Для оценки статистической достоверности филогенетических связей использовали бутстрэп (bootstrap) анализ для 1000 независимых построений каждого филогенетического дерева.

Результаты и обсуждение

Сахалинская область является островным субъектом Российской Федерации (РФ) и входит в состав Дальневосточного федерального округа (ДФО). Её площадь составляет 87 101 км². В 2020 г. численность населения региона составила 488 257 человек, а плотность населения – 5,06 человек на км².

На протяжении десятилетнего периода наблюдения (2011-2020 гг.) заболеваемость хроническим вирусным гепатитом В (ХГВ) и хроническим вирусным гепатитом С (ХГС) в Сахалинской области превышала общероссийские показатели (рис.1, 2.).

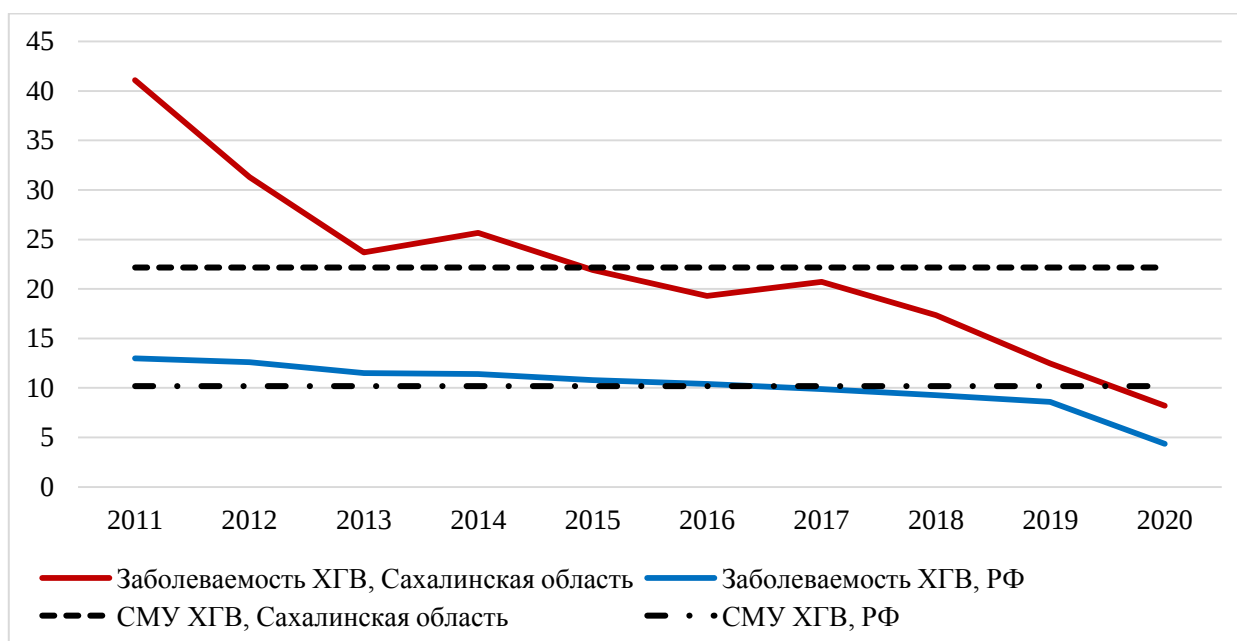


Рис. 1. Заболеваемость ХГВ общего населения Сахалинской области и Российской Федерации за период с 2011 по 2020 гг.

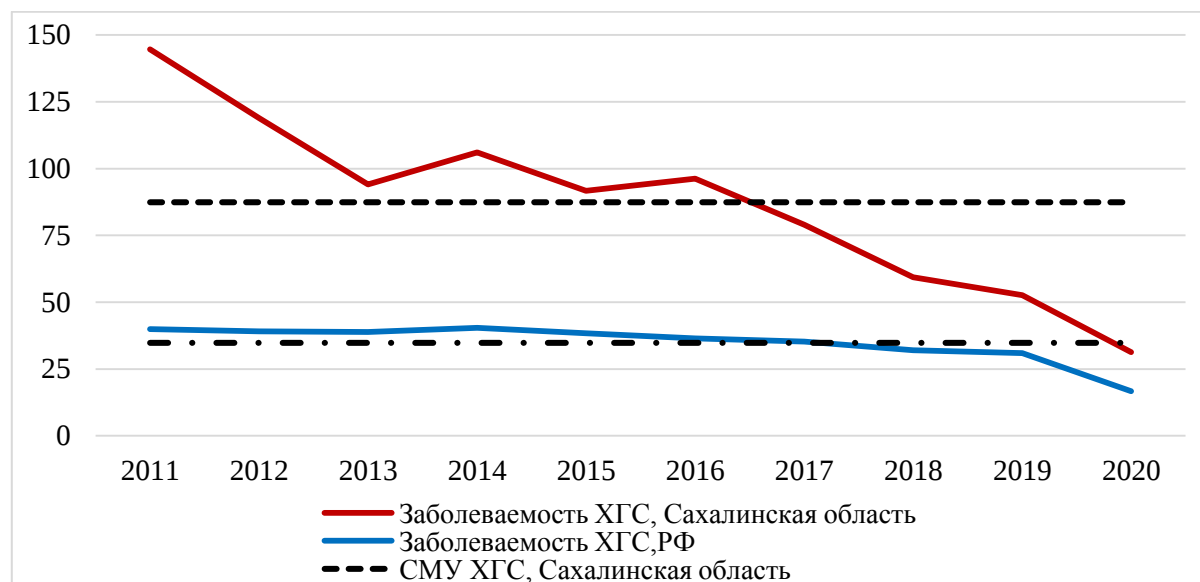


Рис. 2. Заболеваемость ХГС общего населения Сахалинской области и Российской Федерации за период с 2011 по 2020 гг.

Среднемультилетний уровень (СМУ) заболеваемости ХГВ в Сахалинской области равнялся 22,17 случая на 100 тыс. населения, что выше общероссийского (10,18 случаев на 100 тыс. населения) более, чем в 2,2 раза. Аналогичным образом СМУ заболеваемости ХГС в Сахалинской области превышал таковой по стране в 2,5 раза – 87,41 случаев на 100 тыс. населения и 34,79 случая на 100 тыс. населения, соответственно.

Несмотря на это, заболеваемость ХГВ и ХГС в Сахалинской области с 2011 по 2020 гг. имела благоприятную тенденцию к снижению. Уровень заболеваемости ХГВ в 2020 г. составил 8,2 случая на 100 тыс. населения и был в 5 раз ниже таковой в 2011 г. (41,1 случай на 100 тыс. населения), а заболеваемость ХГС снизилась в 3,7 раза – со 144,6 случаев на 100 тыс. населения в 2011 г. до 31,4 случая на 100 тыс. населения в 2020 г. Снижение заболеваемости хроническими вирусными гепатитами (ХВГ) характерно и для России в целом, но происходило оно с меньшей интенсивностью по сравнению с Сахалинской областью. Так, среднероссийская заболеваемость ХГВ уменьшилась в 3 раза – с 13,0 случаев на 100 тыс. населения в 2011 г. до 4,36 случаев на 100 тыс. населения в 2020 г., а заболеваемости ХГС – в 2,4 раза, с 39,9 случаев на 100 тыс. населения в 2011 г. до 16,7 случаев на 100 тыс. населения в 2020 г.

Указанные изменения подкрепляет и анализ многолетней динамики заболеваемости ХГВ и ХГС: среднемультилетние темпы убыли (T_{cp}) показателей в Сахалинской области составили, соответ-

ственно, 6,5% для ХГВ и 6,0% для ХГС. Динамика изменений заболеваемости ХВГ в Российской Федерации за анализируемый десятилетний период была менее интенсивной как для ХГВ ($T_{cp} = -3,6\%$), так и для ХГС ($T_{cp} = -2,8\%$), за исключением 2020 г., когда был выявлен значительный спад заболеваемости хроническими вирусными гепатитами, связанный с введением масштабных ограничительных мероприятий в период пандемии COVID-19 и значительным снижением обращений граждан за медицинской помощью, не связанной с COVID-19.

Следует отметить, что заболеваемость ХГВ и ХГС в Сахалинской области имела три ярко выраженных периода, отличающихся интенсивностью динамики указанных нозологий.

Первый период (с 2011 по 2013 гг.) характеризовался выраженным темпом снижения заболеваемости ХГВ ($T_{cp} = -27,2\%$) и ХГС ($-21,2\%$), на протяжении второго периода (2014–2017 гг.) среднее многолетний темп убыли заболеваемости стал умеренным и для ХГВ ($T_{cp} = -4,0\%$), и для ХГС ($T_{cp} = -4,1\%$), в третий промежуток времени (2018–2020 гг.) произошло ускорение темпов убыли заболеваемости ($T_{cp} = -36,1\%$ для ХГВ и $T_{cp} = -29,3\%$ для ХГС).

Высокую, по сравнению с общероссийской, интенсивность эпидемического процесса хронических вирусных гепатитов в Сахалинской области можно связать со значительным распространением наркомании в регионе. Согласно данным, представленным в «Докладе о наркоситуации в Российской Федерации» за 2020 г., заболеваемость наркоманией и обращаемость лиц, употребляющих наркотики с вредными последствиями, в 2019 г. превышала в 4 раза общероссийские значения – 1134,6 и 273,4 на 100 тыс. населения, соответственно.

В ходе проведенного исследования 39 жителей Сахалинской области с диагнозом хронический вирусный гепатит HBsAg был обнаружен в 7 образцах ($17,9 \pm 6,2\%$). В 18 пробах ($46,2 \pm 8,1\%$) были выявлены анти-HBc (IgG+IgM). HBeAg обнаружен в 1 образце ($2,6 \pm 2,6\%$). Микст-инфекцию ХГВ+ХГД+ХГС имел 1 ($2,6 \pm 2,6\%$) пациент.

ДНК HBV выявлена в 7 из 18 образцов плазмы крови пациентов с выявленными маркерами вируса гепатита В. Во всех ДНК-положительных пробах определен низкий уровень вирусной нагрузки (менее 10^4 МЕ/мл).

Для определения генотипа, выяснения происхождения и возможного родства вариантов HBV с изолятами из других регионов Российской Федерации и стран ближнего и дальнего зарубежья, получены 7 нуклеотидных последовательностей участка генома HBV удовлетворительного качества, пригодных для проведения дальнейшего анализа. В качестве референс-штаммов для анализа использовали последовательности той же области генома HBV из России и других стран мира, представленные в GenBank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank>).

Проведенный молекулярно-генетический анализ 7 образцов HBV показал, что среди обследованных пациентов в пяти случаях определен D генотип, генотип A определен в 2 образцах (рис. 3).

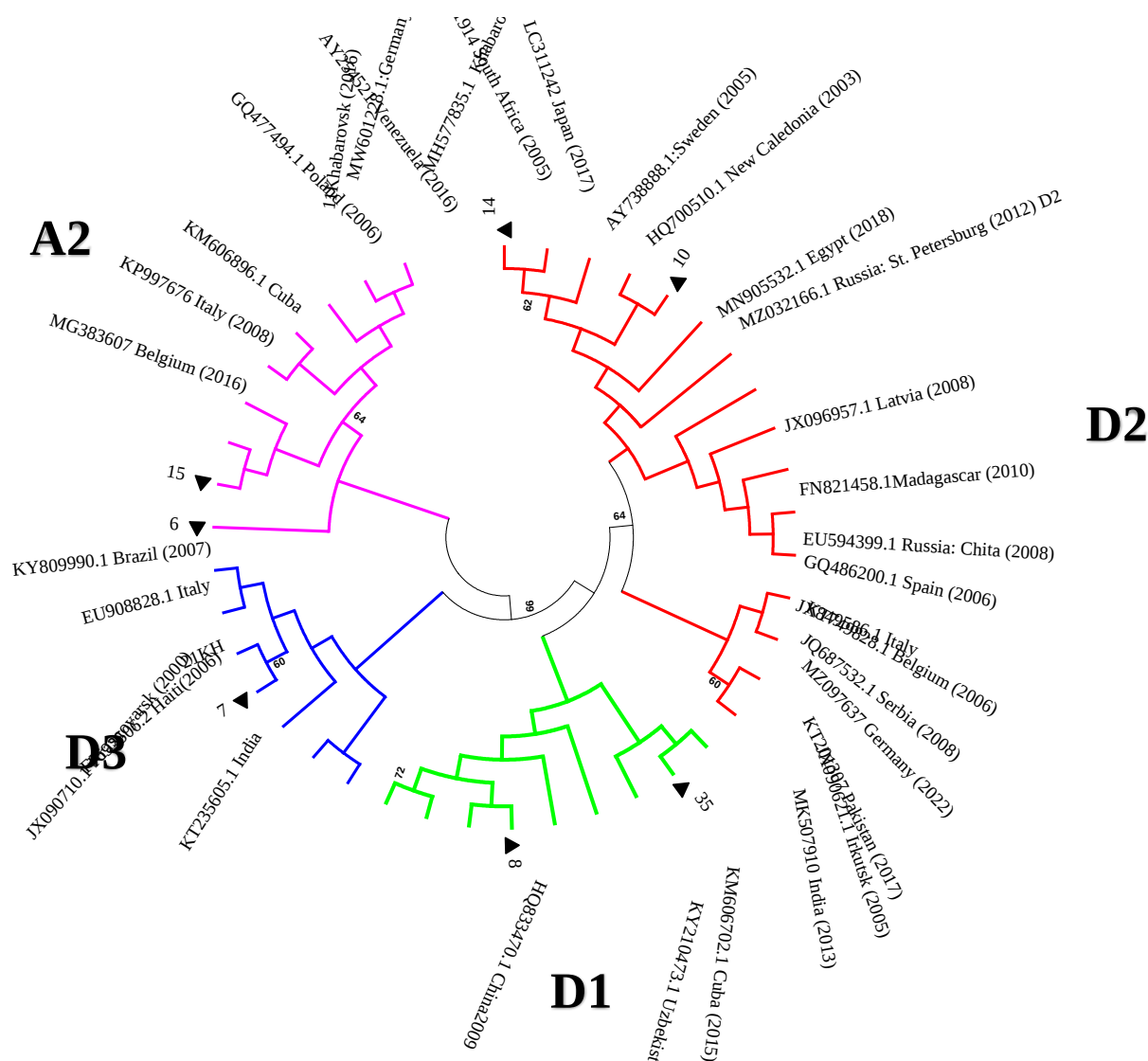


Рис. 3. Результат филогенетического анализа нуклеотидных последовательностей фрагмента генома HBV, циркулирующего среди населения Сахалинской области
(Примечание: Филогенетическое дерево построено с помощью метода Neighbor-joining. Последовательности HBV, изученные в данной работе, выделены черными треугольниками. Обозначение референс-последовательностей HBV соответствует коду GenBank. Указаны значения бутстрэп-индекса, превышающие 70)

На филограмме штаммы HBV генотипа D, полученные нами, и нуклеотидные последовательности штаммов, взятые из GenBank, разделились на три отдельные монофилетические группы, отличающиеся между собой по субтипам: D1, D2 и D3.

Филогенетический анализ 2 образцов субгенотипа D1 выявил формирование небольших кластеров, что может свидетельствовать о разном происхождении последовательностей HBV, относящихся к каждому из них. Один из них был образован нуклеотидной последовательностью образца № 35, полученной в настоящем исследовании, и генетически близкими последовательностями из GenBank, выделенными в 2022 г. в Германии (MZ097637) и в 2017 году в Пакистане (KT201307), а образец № 8 сформировал общую ветвь с референс штаммами из Кубы (KM606702.1), Узбекистана (KY210473.1) и Китая (HQ833470.1), описанных в 2009 и 2015 годах.

К субтипу D2 HBV были отнесены 2 полученные нуклеотидные последовательности, которые сформировали единый кластер с референс штаммами субтипа D2 из России и других стран ближнего и дальнего зарубежья, но при этом наиболее близки им были штаммы, которые были зарегистрированы в 2016 году в ДФО на территории Хабаровского края (MH577835.1 из GenBank и №11 из рабочей коллекции лаборатории ФБУН Хабаровский НИИ эпидемиологии и микробиологии Роспотребнадзора).

На филогенетическом дереве 1 образец HBV образовал общую ветвь с образцами субтипа D3 из разных регионов, но наиболее близок ему оказался штамм, выделенный на территории Хабаровского края в 2016 году.

Два штамма, выделенные на территории Сахалинской области (образцы № 6, 15), сгруппировались на филогенетическом дереве, образуя еще один общий кластер с референс-штаммами субтипа A2. При этом образец №15 обладал большим генетическим сходством с Европейскими штаммами из Польши и Бельгии субгенотипа A2, серотипа adw2. Образец №6 имел меньшую степень гомологии с представителями образовавшегося кластера и близкородственных штаммов для него не было выявлено.

Антитела к вирусному гепатиту С (IgG+IgM) определены у 32 пациентов Сахалинской области ($82,1 \pm 6,2\%$), при обследовании которых методом ПЦР РНК HCV выявлена в 24 ($75,0 \pm 7,8\%$) образцах плазмы крови. Во всех РНК-положительных пробах определен уровень вирусной нагрузки. У 20 ($83,3 \pm 7,8\%$) пациентов он был низкий (менее 8×10^5 МЕ/мл), у 4 ($16,7 \pm 7,8\%$) – высокий (более 8×10^5 МЕ/мл). Предварительное генотипирование HCV, проведенное с использованием набора «Ампли-Сенс -1/2/3» (ФБУН Центральный НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва), показало, что на территории Сахалинской области наиболее распространен 3 генотип HCV – $50,0 \pm 10,4\%$ (в 12 из 24 РНК-HCV-положительных проб). Генотип 1 HCV обнаружен у 6 пациентов ($25,0 \pm 9,0\%$). В 2 случаях ($8,3 \pm 5,8\%$) выявлен 2 генотип, у 4 пациентов ($16,7 \pm 7,8\%$) генотип определить не удалось (рис. 4).



Рис. 4. Распределение различных вариантов генотипов HCV у 24 больных хроническим гепатитом С в Сахалинской области (по данным результатов ПЦР)

Для установления генетических взаимоотношений между отдельными образцами и выявления возможного родства вариантов HCV, циркулирующих на территории Сахалинской области, с изолятами из других регионов Российской Федерации и стран ближнего и дальнего зарубежья, получены 20 нуклеотидных последовательностей участка NS5B области генома HCV удовлетворительного качества, пригодных для проведения дальнейшего анализа. Прямое секвенирование NS5B области генома используется многими исследователями для идентификации различных генотипов HCV и уточнения взаимосвязи между отдельными изолятами. В качестве референс-штаммов для анализа использовали последовательности той же области генома HCV из России и других стран мира, представленные в GenBank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank>).

Филогенетические отношения между исследованными образцами и референсными последовательностями представлены на рис. 5.

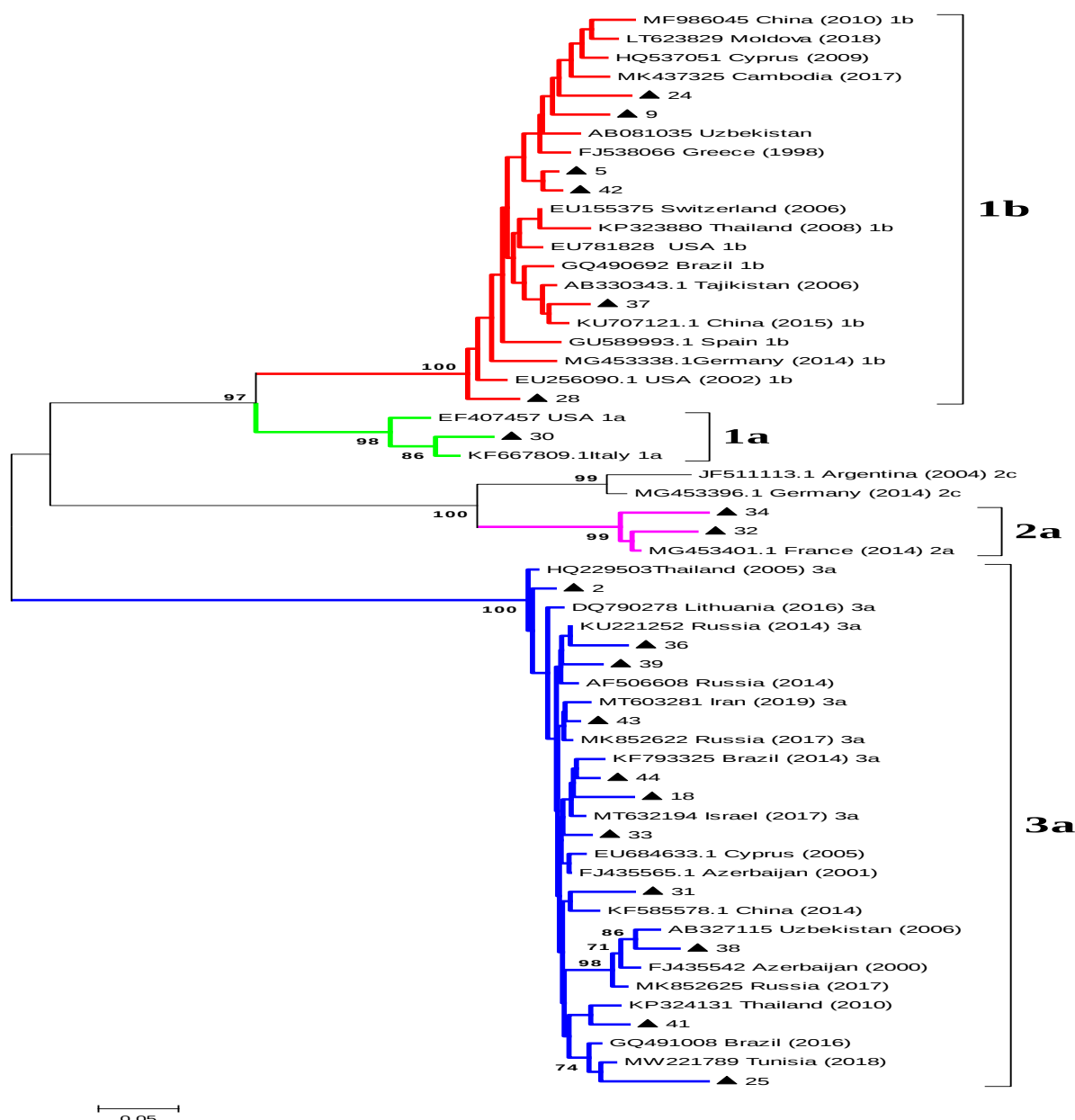


Рис. 5. Результат филогенетического анализа нуклеотидных последовательностей области NS5 генома HCV, циркулирующего среди населения Сахалинской области (Примечание: Филогенетическое дерево построено с помощью метода Neighbor-joining. Последовательности HCV, изученные в данной работе, выделены черными треугольниками. Обозначение референс-последовательностей HCV соответствует коду GenBank. Указаны значения бутстрэп-индекса, превышающие 70)

На филогенетическом дереве 1 образец (№ 30), для которого при предварительном генотипировании с использованием диагностической тест-системы «АмплиСенс -1/2/3» (ФБУН Центральный НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва) не был получен результат с высоким уровнем bootstrap-поддержки (98%), образовал общую ветвь с изолятами, принадлежавшими 1a субтипу из США (EF407457), где данный геновариант является эндемичным, и из Италии (KF667809), выделенными соответственно в 2007 и 2012 годах.

Шесть исследуемых нами штаммов равномерно распределились между референс штаммами HCV субтипа 1b, представленными в международной базе данных GenBank из стран ближнего и дальнего зарубежья (Узбекистан, Греция, США, Германия, Италия, Китай, Бразилия). Низкое сходство изученных нами штаммов со штаммами из России обусловлено, скорее всего, невысокой долей штаммов, выделенных на территориях РФ и представленных в международной базе данных GenBank.

Филогенетический анализ 11 образцов, отнесенных по результатам ПЦР-генотипирования к генотипу 3, показал, что все полученные нами нуклеотидные последовательности кластеризуются на одной ветви филогенетического древа с ранее полученными последовательностями той же области

генома вариантов субтипа 3а, выделенными в разные годы в различных регионах Российской Федерации и мира.

При филогенетическом анализе 2 образца, отнесенные по результатам предварительного генотипирования к генотипу 2, с высоким уровнем bootstrap-поддержки (99%) образовали единый кластер с изолятами из Франции, принадлежавшими 2а субтипу (MG453401.1).

Таким образом, филогенетический анализ нуклеотидных последовательностей области NS5b генома HCV, проведенный нами для 20 исследованных образцов, показал следующее итоговое соотношение субтипов: 3а – 11 (55,0±11,4%), 1в – 6 (30,0±10,5%), 1а – 1 (5±5%), 2а – 2 (10,0±6,9%). Причём по итогам филогенетического анализа один из четырёх изолятов, нетипируемых обычным методом ПЦР, удалось отнести к субтипу 1а.

Полученные и проанализированные нуклеотидные последовательности депонированы в GenBank (№№ OQ240446-OQ240486), что значительно дополнит существующие представления о циркуляции геновариантов HBV и HCV на территориях Российской Федерации.

Заключение

В результате проведенного молекулярно-генетического исследования у населения Сахалинской области выявлено генетическое разнообразие вирусов гепатитов В (HBV) и С (HCV). Показано, что развитие эпидемического процесса хронического гепатита В на данной территории обусловлено циркуляцией двух генотипов HBV: D и A. Среди исследованных образцов генотип D HBV обнаружен в 5 из 7 изолятов и представлен тремя субгенотипами D1, D2, D3. На долю субтипа А пришлось 2 из 7 образцов. Молекулярно-генетическое исследование вируса гепатита С, проведенное на территории Сахалинской области с использованием метода секвенирования, позволило выявить более четкий спектр циркулирующих субтипов HCV, а именно: 1а, 1в, 2а и 3а с преобладанием субтипа 3а.

Полученные данные значительно дополняют существующие представления о циркуляции геновариантов HBV и HCV на территориях Российской Федерации и позволят не только расширить информационную базу GenBank изученными нуклеотидными последовательностями вирусов гепатитов В и С, циркулирующих среди населения Сахалинской области, но и использовать результаты молекулярно-генетического анализа для совершенствования эпидемиологического надзора за вирусными гепатитами, в том числе при проведении эпидемиологического расследования.

За предоставленные сведения и биологический материал авторы выражают благодарность сотрудникам Управления Роспотребнадзора по Сахалинской области и ГБУЗ «Сахалинский областной центр по профилактике и борьбе со СПИД».

Литература

1. ВОЗ: Информационный бюллетень. Гепатит С. - 2021, ВОЗ: Информационный бюллетень. Гепатит В. - 2021. www.who.int.
2. Герасимова В. В., Максимова Н.Р., Левакова И.А., Мукомолов С.Л. Молекулярная эпидемиология вируса гепатита В в Якутии // Якутский медицинский журнал. – 2014. – № 3(47). – С. 54-57.
3. Государственный доклад «О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации по Республике Саха (Якутия) в 2022 году», https://www.rosпотребнадзор.ru/documents/details.php?ELEMENT_ID=25076
4. Елпаева Е.А., Никитина О.Е., Писарева М.М., Шилова И.В. и др. Генетические варианты вируса гепатита В у пациентов с хроническим гепатитом В // Журнал инфектологии. - 2015. - Т.7, №3. - С.44-50.
5. Кочнева Г.В., Мануйлов В.А., Нетесова И.Г., Чуб Е.В. и др. Генотипы и субгенотипы изолятов вируса гепатита В на территории Сибири // Проблемы Особо Опасных Инфекций. – 2011. - №3 (109). - С.31-35.
6. Кравченко А.В., Куимова У.А., Ганкина Н.Ю., Канестри В.Г., Чуланов В.П. Предикторы устойчивого вирусологического ответа при терапии хронического гепатита пегилированным интерфероном и рибавирином у больных ВИЧ-инфекцией // Инфекционные болезни. - 2014. - Т. 12, № 2. - С. 30–34.
7. Кюрегян К.К., Михайлов М.И. Молекулярно-биологические основы контроля вирусных гепатитов. - Москва: «Икар», 2013. - 336 с.
8. Львов, Д. К., Самохвалов Е.И., Миширо С., Тсуда Ф., Селиванов Н.А., Окамото Х., Стаханова В.М. Закономерности распространения вируса гепатита С и его генотипов в России и странах СНГ // Вопросы вирусологии. - 1997. - № 4. - С. 157-161.
9. Мукомолов С.Л., Левакова Л.Г., Сулягина Е.В., Синайская Е.В., Болсун Д.Д., Иванова Н.В. Современная эпидемиология гепатита С в России // Эпидемиология и инфекционные болезни. Актуальные вопросы. - 2012. - № 6. - С. 21–25.
10. Семенов А.В., Останкова Ю.В., Герасимова В.В., Бичурина М.А., Козлов А.В., Мукомолов С.Л., Тотолян А.А. Молекулярно-эпидемиологические особенности изолятов вируса гепатита С из разных регионов Республики Саха (Якутия) // Инфекция и иммунитет. – 2015. - Т.5, №4. - С.359-372.
11. Соболева Н.В., Карлсен А.А., Кожанова Т.В., Кичатова В.С., Клушкина В.В., Исаева О.В., Игнатьева М.Е., Романенко В.В., Ооржак Н.Д., Малинникова Е.Ю., Кюрегян К.К., Михайлов М.И. Рас-

пространенность вируса гепатита С среди условно здорового населения Российской Федерации // Журнал инфектологии. - 2017. - Т.9, №2. - С.56-64.

12. Чуб Е.В., Кочнева Г.В., Гранитов В.М. и др. Рекомбинанты вируса гепатита С типа 2k/1b у населения Алтайского края // Инфекционные болезни. - 2007. - Т.5, № 4. С.5-11.

13. Чуланов В.П. Эпидемиологическое и клиническое значение генетической гетерогенности вирусов гепатита А и В: Автореф. дис. ...докт. мед. наук: 14.02.02. – Москва, 2013. – 47 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. – Vol.288, №11. – P.1722-1729. doi: 10.1093/infdis/jiy401.

15. International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV), 2022 URL: https://talk.ictvonline.org/ictv_wikis/flaviviridae/w/sg_flavi/56/hcv-classification. (Accessed: 15.05.2023).

16. Kramvis A, Kew M, Francois G. Hepatitis B virus genotypes // Vaccine. – 2005. - Vol.23, №19. – P.2409-23. doi: 10.1016/j.vaccine.2004.10.045.

17. Kramvis A, Kew MC. Relationship of genotypes of hepatitis B virus to mutations, disease progression and response to antiviral therapy // J Viral Hepat. – 2005. – Vol.12, №5. – P.456-64. doi: 10.1111/j.1365-2893.2005.00624.x.

18. Kramvis A. Genotypes and genetic variability of hepatitis B virus // Intervirology. -2014. -Vol.57, №3-4. – P.141-50. doi: 10.1159/000360947.

19. Lin CL, Kao JH. The clinical implications of hepatitis B virus genotype: Recent advances. // J Gastroenterol Hepatol. – 2011. – Vol.26. – P.123-130. doi.org/10.1111/j.1440-1746.2010.06541.x

20. Rajhi M., Ghedira K., Chouikha A. et al. Phylogenetic Analysis and Epidemic History of Hepatitis C Virus Genotype 2 in Tunisia, North Africa // PLoS One. – 2016. - Vol4, № 11. - e0153761. doi:10.1371/journal.pone.0153761.

21. Tamura K., Stecher G., Peterson D. et al. MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 6.0 // Molecular Biology and Evolution. – 2013. - №30. - P..2725-2729. doi: 10.1093/molbev/mst197.

22. Tatematsu K. A genetic variant of hepatitis B virus divergent from known Human and ape genotypes isolated from a Japanese patient and provisionally assigned to new genotype J // J. Virol. – 2009. – V.83, №20. – P.10538-10547. doi: 10.1128/JVI.00462-09.

23. Wang Z., Liu Z., Zeng G. et al. A new intertype recombinant between genotypes C and D of hepatitis B virus identified in China // J. Gen. Virol. –2005. – Vol. 86. – P. 985-990. doi: 10.1099/vir.0.80771-0.

Сведения об ответственном авторе:

Котова Валерия Олеговна – старший научный сотрудник, заведующая лабораторией эпидемиологии и профилактики вирусных гепатитов и СПИДа ФБУН Хабаровский НИИ эпидемиологии и микробиологии Роспотребнадзора, e-mail: dvaids@mail.ru