

УДК: 578.5:578.891:001.891(571.6)"2021/2025"
DOI: 10.62963/2073-2899-2026-53-32-46

АНАЛИЗ ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКИХ СВЯЗЕЙ МЕЖДУ ИЗОЛЯТАМИ ВИРУСА ГЕПАТИТА С, ЦИРКУЛИРОВАВШИМИ СРЕДИ НАСЕЛЕНИЯ В РЕГИОНАХ ДФО НА ПРОТЯЖЕНИИ 2021-2025 ГГ.

Базыкина Е.А., Троценко О.Е., Котова В.О., Балахонцева Л.А.

ФБУН Хабаровский НИИ эпидемиологии и микробиологии Роспотребнадзора, г. Хабаровск, Российская Федерация

Ответственный за взаимодействие с редакцией: Базыкина Елена Анатольевна – научный сотрудник лаборатории эпидемиологии и профилактики вирусных гепатитов и СПИД ФБУН Хабаровский НИИ эпидемиологии и микробиологии Роспотребнадзора, e-mail: dvaids@mail.ru

АННОТАЦИЯ

Введение. Вирусный гепатит С продолжает оставаться острой проблемой современного здравоохранения. Осуществление молекулярно-генетического надзора за возбудителем дополняет существующий классический эпидемиологический анализ, позволяя изучать филогенетические связи, существующие между циркулирующими вариантами вируса.

Цель исследования – изучение филогенетических связей между вариантами вируса гепатита С, циркулировавшими на протяжении 2021-2025 гг. на отдельных территориях, входящих в состав Дальневосточного федерального округа.

Материалы и методы. Проведено секвенирование и филогенетический анализ 135 изолятов вируса гепатита С, циркулировавших среди населения Хабаровского края, Магаданской, Сахалинской и Амурской областей в 2021-2025 гг.

Результаты и обсуждение. Кластеризация нуклеотидных последовательностей вируса гепатита С, циркулировавших в Дальневосточном федеральном округе, характеризуется формированием клада с высоким уровнем апостериорной поддержки, включающих сиквенсы как из охваченных наблюдением субъектов Дальневосточного федерального округа, так и других регионов России и зарубежных стран. Из них можно выделить несколько кладов, обращающих на себя особое внимание. Например, наличие кластера, сформированного нуклеотидными последовательностями 3a субтипа вируса, изолированными от пациентов с сочетанной инфекцией ВИЧ и хроническим гепатитом С из Магаданской области, можно интерпретировать как сеть передачи вируса гепатита С среди лиц, живущих с ВИЧ. Несколько монофилетических кластеров, включающих сиквенсы, полученные от пациентов с моноинфекцией хроническим гепатитом С из Хабаровского края (2a субтип) и Амурской области (1b субтип), имеют признаки локальной передачи вируса среди населения регионов.

Выводы. Проведение регулярного мониторинга за вариантами вируса гепатита С способствует расширению существующих знаний о молекулярно-эпидемиологических закономерностях между циркулирующими в субъектах Дальневосточного федерального округа изолятами вируса.

Ключевые слова: вирус гепатита С, генотипы, филогенетический анализ, Амурская область, Хабаровский край, Магаданская область, Сахалинская область

Информация о вкладе авторов: Концепция и дизайн исследования – О.Е. Троценко, Е.А. Базыкина. Сбор и обработка материала – В.О. Котова, Л.А. Балахонцева. Написание текста – Е.А. Базыкина. Проведение филогенетического анализа – Е.А. Базыкина. Выполнение лабораторных исследований – В.О. Котова, Л.А. Балахонцева, Е.А. Базыкина. Редактирование текста – О.Е. Троценко. Утверждение окончательного варианта статьи – О.Е. Троценко.

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Исследование одобрено этическим комитетом ФБУН Хабаровский НИИ эпидемиологии и микробиологии Роспотребнадзора, протокол 12 от 25.12.2020 г.

Все включенные в работу пациенты подписали **информированное согласие на участие в исследовании.**

PHYLOGENETIC ANALYSIS OF HEPATITIS C VIRUS ISOLATES CIRCULATION AMONG POPULATION OF THE FAR EASTERN FEDERAL DISTRICT CONSTITUENT ENTITIES DURING 2021-2025

Bazykina E.A., Trotsenko O.E., Kotova V.O., Balakhonsteva L.A.

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

SUMMARY

Introduction. Viral hepatitis C remains a pressing issue of modern healthcare. Molecular-genetic surveillance of the pathogen extends the classic epidemiological approach and allows the study of phylogenetic relationships between the circulating virus variants.

Objective of the research – to study phylogenetic relationship between the hepatitis C variants that were circulating in some constituent entities of the Far Eastern federal district during 2021-2025.

Materials and methods. Sequencing (n=135) and phylogenetic analysis of hepatitis C virus isolates circulating among the population of the Khabarovsk Krai, Magadan, Sakhalin and Amur Oblasts in 2021-2025 were performed.

Results and discussion. Phylogenetic clustering of the nucleotide sequences of the variants circulating in the Far Eastern federal district demonstrates clades comprising sequences from surveyed regions of the district, other territories of the Russian Federation, and foreign countries. Some of the monophyletic clusters should be paid special attention. For example, a cluster of 3a subtype hepatitis C virus nucleotide sequences derived from patients with HIV and chronic hepatitis C infection could represent a viral transmission network among people living with HIV in the Magadan Oblast. Other monophyletic clusters that include isolates obtained from patients with chronic hepatitis C monoinfection residing in the Khabarovsk Krai (2a subtype) and Amur Region (1b subtype) display features of a regional viral network.

Conclusion. Regular surveillance of hepatitis C virus variants contributes to expansion of the existing knowledge of molecular-epidemiological characteristics of isolates circulating in the constituent entities of the Far Eastern federal district.

Key words: *hepatitis C virus, genotypes, phylogenetic analysis, Amur Oblast, Khabarovsk Krai, Magadan Oblast, Sakhalin Oblast*

Information about the authors' contributions: Research concept and design – O.E. Trotsenko, E.A. Bazykina. Data collection and processing – V.O. Kotova, L.A. Balakhontseva. Manuscript drafting – E.A. Bazykina. Phylogenetic analysis – E.A. Bazykina. Laboratory research – V.O. Kotova, L.A. Balakhontseva, E.A. Bazykina. Text editing – O.E. Trotsenko. Approval of the final version of the manuscript – O.E. Trotsenko.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

The study was approved by the Ethics Committee of the Khabarovsk Research Institute of Epidemiology and Microbiology of Rospotrebnadzor, Protocol No. 12 dated December 25, 2020.

All patients and their legal representatives signed an **informed consent** form to participate in the study.

Введение

Согласно данным ВОЗ, гемоконтактные вирусные гепатиты, вирусный гепатит С (ВГС) в частности, продолжают оставаться значительной проблемой здравоохранения во всем мире. По данным ВОЗ, за 2022 г., хроническим гепатитом С (ХГС) было инфицировано порядка 50 миллионов человек с ежегодным приростом числа инфицированных в один миллион человек. Абсолютные значения летальности от ХГС достигли 242 тыс. человек, которые в большинстве случаев были связаны с такими неблагоприятными исходами как цирроз печени и гепатоцеллюлярная карцинома [1].

Хронические гемоконтактные вирусные гепатиты наносят значительный экономический ущерб, который в Российской Федерации в 2024 г. составил более 81 млрд рублей, а число впервые выявленных случаев ХГС в 2024 г. в России составило 50,9 тыс. человек [2].

Несмотря на накопившиеся научные знания о патогенезе, иммунном ответе организма хозяина на внедрение возбудителей вирусных гепатитов, а также разработку и внедрение современных противовирусных схем в терапию заболеваний, изучение данных патогенов остается одной из первоочередных задач [3, 4, 5, 6].

Одним из факторов, обуславливающих сложность элиминации ВГС из организма хозяина, является его высокая генетическая изменчивость. ВГС разделен на восемь генотипов (1-8), а количество его субтипов превышает 90. Доминантными геновариантами ВГС, получившими распространение во всех странах мира, являются 1a, 1b, 2a, 2b, 2c и 3a. Для ВГС характерны значительные территориальные отличия в распределении геновариантов вируса, которые зачастую могут иметь особенности не только на уровне стран, но в регионах внутри страны, что следует учитывать при разработке мер противодействия распространению инфекции среди населения [7, 8].

На территории Российской Федерации чаще всего регистрируется циркуляция 1b и 3a субтипов ВГС, реже 1a и 2 генотипа [9, 10]. Особенностью циркуляции 2 генотипа ВГС в Российской Федерации является довольно высокая распространенность его рекомбинантной формы 2k/1b, которая при проведении рутинного анализа ПЦР расценивается как 2 генотип вируса, в связи с тем, что тест-системы, используемые в рутинной лабораторной практике, не захватывают участок генома, где располагается место рекомбинации. Разработка тест-систем, позволяющих диагностировать рекомбинантную форму 2k/1b ведется, однако для коммерческого использования они пока недоступны [11, 12].

Цель исследования – изучение филогенетических связей между вариантами ВГС, циркулировавшими на протяжении 2021-2025 гг. на отдельных территориях, входящих в состав Дальневосточного федерального округа (ДФО).

Материалы и методы:

Выборка для проведения секвенирования и филогенетического анализа включала последовательности ВГС, полученные от пациентов с хронической инфекцией, проживавших на момент забора биологического материала в Амурской (n=23, 2021 г.), Сахалинской (n=18, 2021, n=16, 2022 гг.) областях, Хабаровском крае (n=44, 2023, n=12, 2025 гг.) и Магаданской области (n=22, 2024 г.).

Коммерческий набор реагентов «АмплиПрайм РИБО-преп» (производства ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, г. Москва) использовался для проведения экстракции РНК ВГС из образцов плазмы крови объемом 100 мкл в соответствии с протоколом производителя.

Определение РНК ВГС, вирусной нагрузки в положительных образцах, а также генотипирование ВГС проводили методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с детекцией результатов в режиме реального времени с использованием коммерческих тест-систем «АмплиСенс® HCV-FL», «АмплиСенс® HCV-Монитор-FL», «АмплиСенс - 1/2/3» (ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, г. Москва).

Диагностический набор «Реверта-Л» (ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, г. Москва) применялся для проведения обратной транскрипции РНК ВГС-положительных образцов. Полученная кДНК впоследствии использовалась для постановки ПЦР со специфическими праймерами к core-E1 участку генома (компания «Синтол», Россия) [13]. Продукты амплификации визуализировали методом электрофореза в 2,0% агарозном геле. Очистку ампликонов от компонентов реакционной смеси осуществляли с использованием коммерческого набора (diaGene, Россия).

Секвенирование очищенных ПЦР-фрагментов осуществляли с помощью набора BigDye® Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kits (Applied Biosystems/Life Technologies, США) на генетическом анализаторе 3500 ABI PRISM (Applied Biosystems/Life Technologies, США). Полученные данные обрабатывали в программном обеспечении Sequencing Analysis Software 6 (Applied Biosystems, США).

Идентификацию генетически близких изолятов HCV проводили с использованием алгоритма BLAST, интегрированного в базу данных NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST>). Множественное выравнивание нуклеотидных последовательностей выполняли в программе BioEdit v.7.1.9 с встроенной функцией ClustalW [14].

Для оценки филогенетических связей между последовательностями ВГС проводили построение филогенетических деревьев фрагментов генов Core-E1 ВГС в пакете программ BEAST 2.6.7. [15]. Для выбора модели нуклеотидных замен использовался параметр BIC (Bayesian information criterion), рассчитанный в программе IQ-TREE 1.6.12. [16].

В качестве модели молекулярных часов были выбраны расслабленные молекулярные часы с логнормальным распределением скорости нуклеотидных замен. Запуск (MCMC –Markov chain Monte

Carlo) проводили до тех пор, пока эффективный размер выборки (ESS – effective sample size) не составил 200 образцов. Визуализация филогенетических деревьев, построенных в программе BEAST 2.6.7., проводилась в программном обеспечении FigTree v1.4.4 (<https://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/>).

Результаты и обсуждение

В ходе работы за 2021-2025 гг. было проанализировано 157 положительных на РНК ВГС образцов, из них 86 принадлежали 1 генотипу (54,8%; 95% ДИ: 47,0 – 62,5%), в том числе 75 (47,8%; 95% ДИ: 40,0-55,6%) – 1b и 11 (7,0%; 95% ДИ: 3,5 – 11,5%) – 1a субтипам ВГС, 60 (38,2%; 95% ДИ: 30,8 – 45,9%) – к 3a субтипу ВГС и 11 (7,0%; 95% ДИ: 3,5 – 11,5%) – к 2 генотипу, из них девять типировались как 2a субтип, один как 2c субтип и один как рекомбинантная форма 2k/1b (рис. 1), что отражает классическое распределение геновариантов ВГС в целом по Российской Федерации [3, 10].

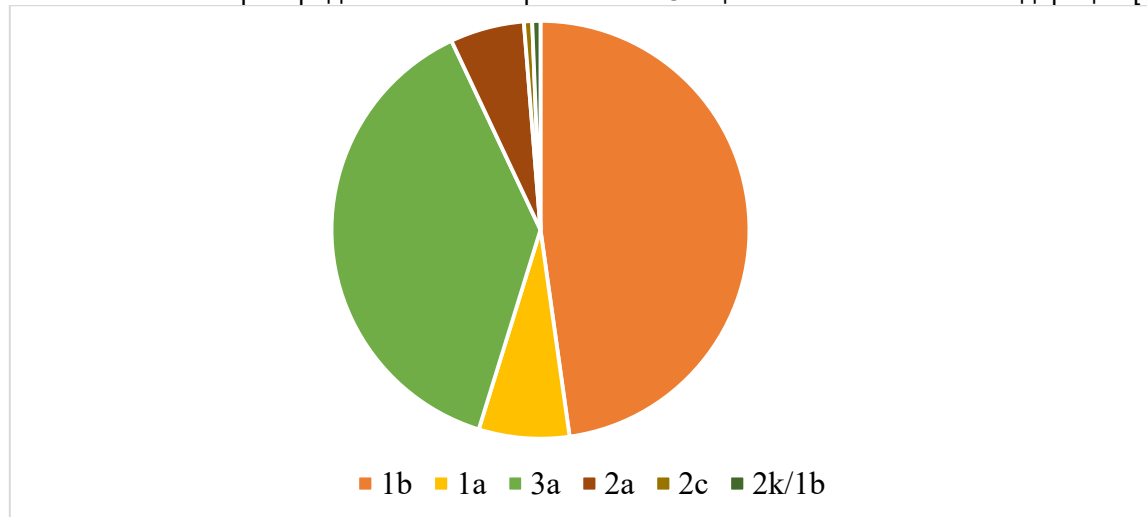


Рис. 1. Круговая диаграмма распределения геновариантов ВГС в выборке сиквенсов, полученных от пациентов, инфицированных ВГС в субъектах ДФО за 2021-2025 гг.

Были отмечены некоторые географические особенности распределения геновариантов ВГС (рис. 2).

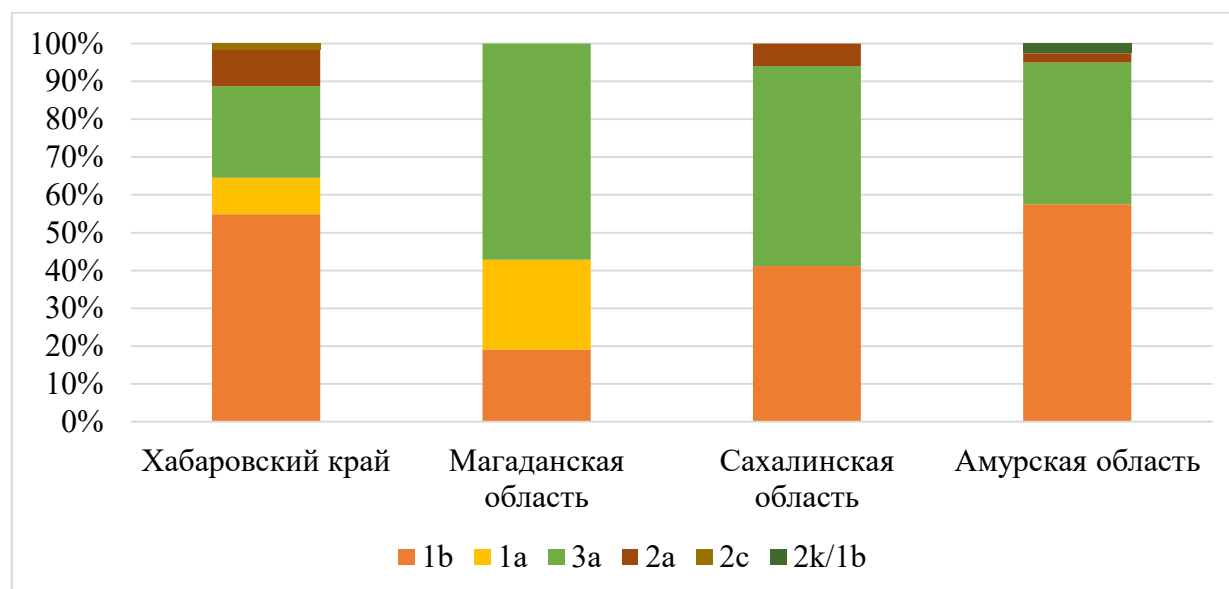


Рис. 2. Распределение геновариантов ВГС по субъектам ДФО, где был произведен забор биологического материала для исследования.

Так, в Амурской области доминировал 1b субтип ВГС (23 сиквенса, 57,5%; 95% ДИ: 42,1 – 72,2%), несколько реже определялся 3a геновариант вируса (15 сиквенсов, 37,5%; 95% ДИ: 23,3 – 52,9%), единичные пробы были типированы как 2 генотип (2a – 1 сиквенс, 2,5%; 95% ДИ: 0,001 – 9,5%; 2k/1b – 1 сиквенс, 2,5%; 95% ДИ: 0,001 – 9,5%).

В Магаданской области доминировал 3а субтип ВГС. Для субъекта также характерно относительно частое выделение 1а субтипа вируса (3а – 12 сиквенсов, 57,1%; 95% ДИ: 35,9 – 77,0%, 1а – 5 сиквенсов, 23,8%; 95% ДИ: 8,5 – 43,8%, 1b – 4 сиквенса, 19,0%; 95% ДИ: 5,5 – 30,1%).

В Сахалинской области было установлено преобладание 3а субтипа ВГС, чуть реже изолировали 1b геновариант (3а – 18 сиквенсов, 52,9%; 95% ДИ: 36,3 – 69,2%, 1b – 14 сиквенсов, 41,2%; 95% ДИ: 25,4 – 57,9%, 2а – 2 сиквенса, 5,9%; 95% ДИ: 0,6 – 16,1%).

Наибольшее разнообразие циркулирующих вариантов ВГС было установлено в Хабаровском крае. Превалировал 1b субтип – 34 сиквенса, (54,8%; 95% ДИ: 42,4 – 66,9%), 3а субтип выявлялся в 15 случаях (24,2%; 95% ДИ: 14,4 – 35,5%), у 6 пациентов были типированы 1а (9,7%; 95% ДИ: 3,6 – 18,2%) и 2а субтип вируса (9,7%; 95% ДИ: 3,6 – 18,2%), 2с субтип был представлен 1 сиквенсом (1,6%; 95% ДИ: 0,001 – 6,2%).

Общее филогенетическое дерево 1 генотипа ВГС для удобства прочтения разделено на три рисунка: 2.1, 2.2 и 2.3. Последовательности 1b субтипа, циркулировавшие на территории Хабаровского края, Сахалинской и Амурской областей, на дендрограмме образовали множество некрупных монофилетических кластеров, включавших не более 4 сиквенсов. Кластеризация происходила как с изолятами из одной территории, так и с Российскими и зарубежными последовательностями.

Сиквенсы из Хабаровского края сформировали 11 кластеров (KHN1-KHN11) со значимым уровнем апостериорной поддержки (от 0,7 до 1,0). Из них четыре кластера включали несколько сиквенсов из Хабаровского края (KHN3, рис. 2.1; KHN 7, KHN8 и KHN10, рис. 2.2), три из них оказались монофилетическими (KHN 7, KHN8 и KHN10, рис. 2.2). В кластере KHN3 (рис. 2.1) помимо сиквенсов из Хабаровского края прослеживается связь с канадскими геновариантами ВГС, что дает возможность заявлять о существовавшем обмене генетическими вариантами между странами. Оставшиеся семь кластеров включали последовательности из Хабаровского края и стран дальнего зарубежья: Южной Америки (KHN1 - Бразилия, KHN4 – Мексика, Рис. 2.1; KHN11 – Аргентина, рис. 2.3), Европы (KHN9 – Италия, Рис. 2.2) и Ближнего Востока (KHN2, KHN5 – Израиль, рис. 2.1; KHN6 – Турция, рис. 2.2).

Нуклеотидные последовательности из Сахалинской области сформировали восемь кластеров (S1-S6 и FE1-FE2), в четыре из которых входили сиквенсы из других регионов России. Кластеры FE1 и FE2 (рис. 2.2) представляют особый интерес, так как включают нуклеотидные последовательности дальневосточных изолятов ВГС. В кластер FE1 вошли только сиквенсы из ДФО (из Хабаровского края, Сахалинской и Амурской областей). Объединение сиквенсов, циркулировавших в Хабаровском крае в 2022 г. и в Сахалинской области в 2018 г., в кластеры может свидетельствовать в пользу наличия филогенетических связей между ними и подразумевает циркуляцию в регионах родственных вариантов, характерных для ДФО. Клада FE2 в свою очередь, помимо сиквенсов из Сахалинской и Амурской областей, включала изоляты из Камбоджи (Азиатско-Тихоокеанский регион) и Уругвая (Южная Америка), что отражает сложные филогеографические связи, заложившие генетическое разнообразие в регионе.

Один монофилетический кластер (S5 – рис. 2.2) с высоким уровнем апостериорной поддержки (1,0), образованный вариантами 1b субтипа, циркулировавшими в Сахалинской области, может свидетельствовать о наличии тесной эпидемиологической связи между ними. В кластер S3 (рис. 2.2) вошли последовательности из Сахалинской (2022 г.) и Московской областей (2006 г.). Пять кластеров, включали как сиквенсы ВГС из Сахалинской области, так и из стран дальнего зарубежья: S1 (рис. 2.1) и FE2 (рис. 2.2) – с изолятами из Камбоджи, S2 (рис. 2.1) и S6 (рис. 2.2) – с изолятами из Испании, кластер S4 (рис. 2.2) помимо сиквенса из Сахалинской области включал последовательности из Испании и Израиля.

Из восьми кластеров, образованных нуклеотидными последовательностями, циркулировавшими в Амурской области (A1-A5, FE1 и FE2, рис. 2.2), в три вошли сиквенсы из различных субъектов России. Отдельно выделяется кластер A6 (рис. 2.3), который может быть примером локальной циркуляции вируса среди населения региона – на филогенетическом дереве сиквенсы расположились на отдельной ветке с высокими значениями апостериорной поддержки (более 0,9) в узлах.

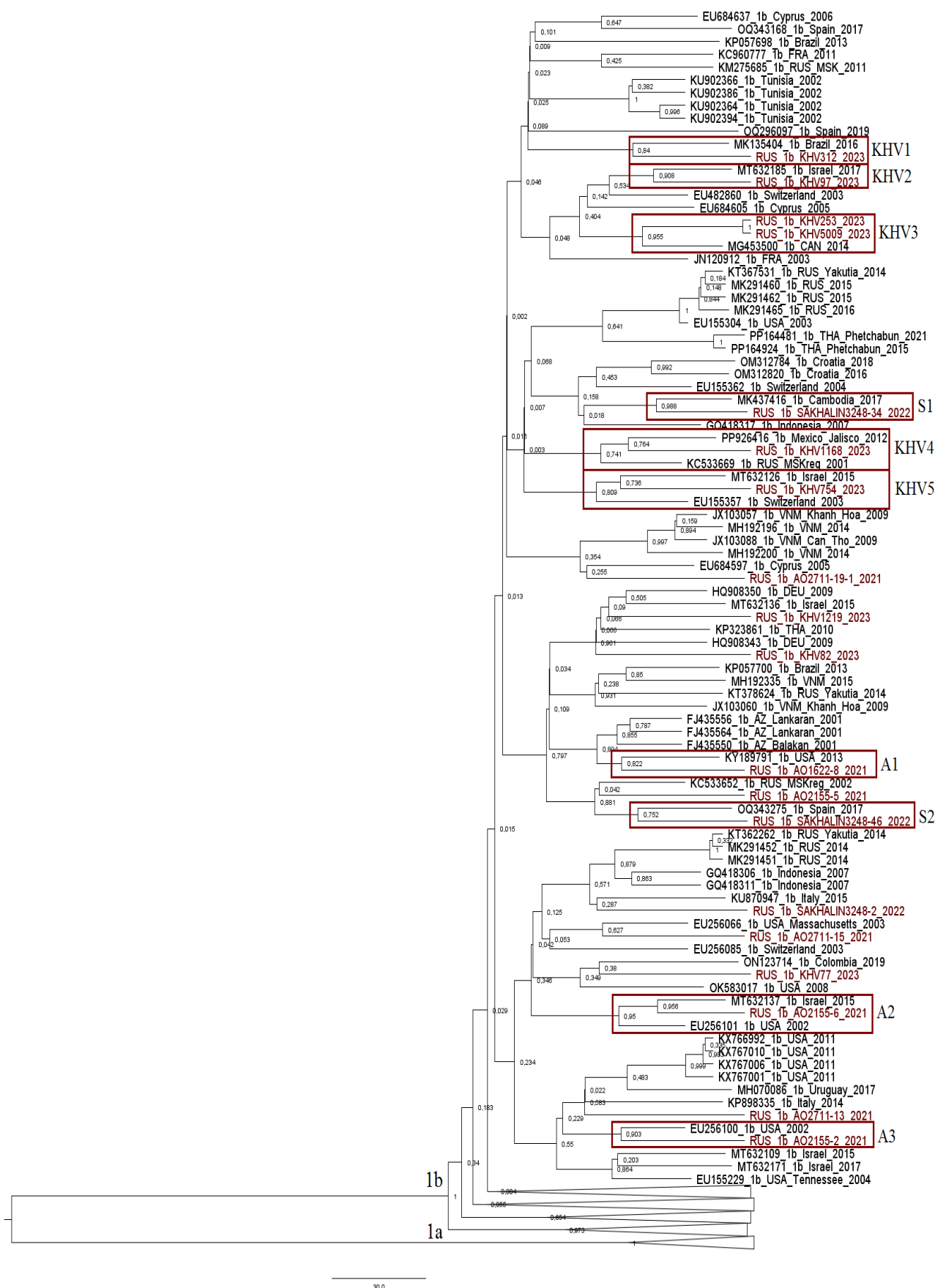


Рис. 2.1. Филогенетическое дерево 1 субтипа ВГС.

Примечание: Филогенетическое дерево построено с помощью метода байесовской статистики. Латинскими буквами выделены кластеры с достаточным уровнем апостериорной поддержки. Красным цветом отмечены последовательности, полученные от пациентов с моноинфекцией ХГС в ходе исследования.

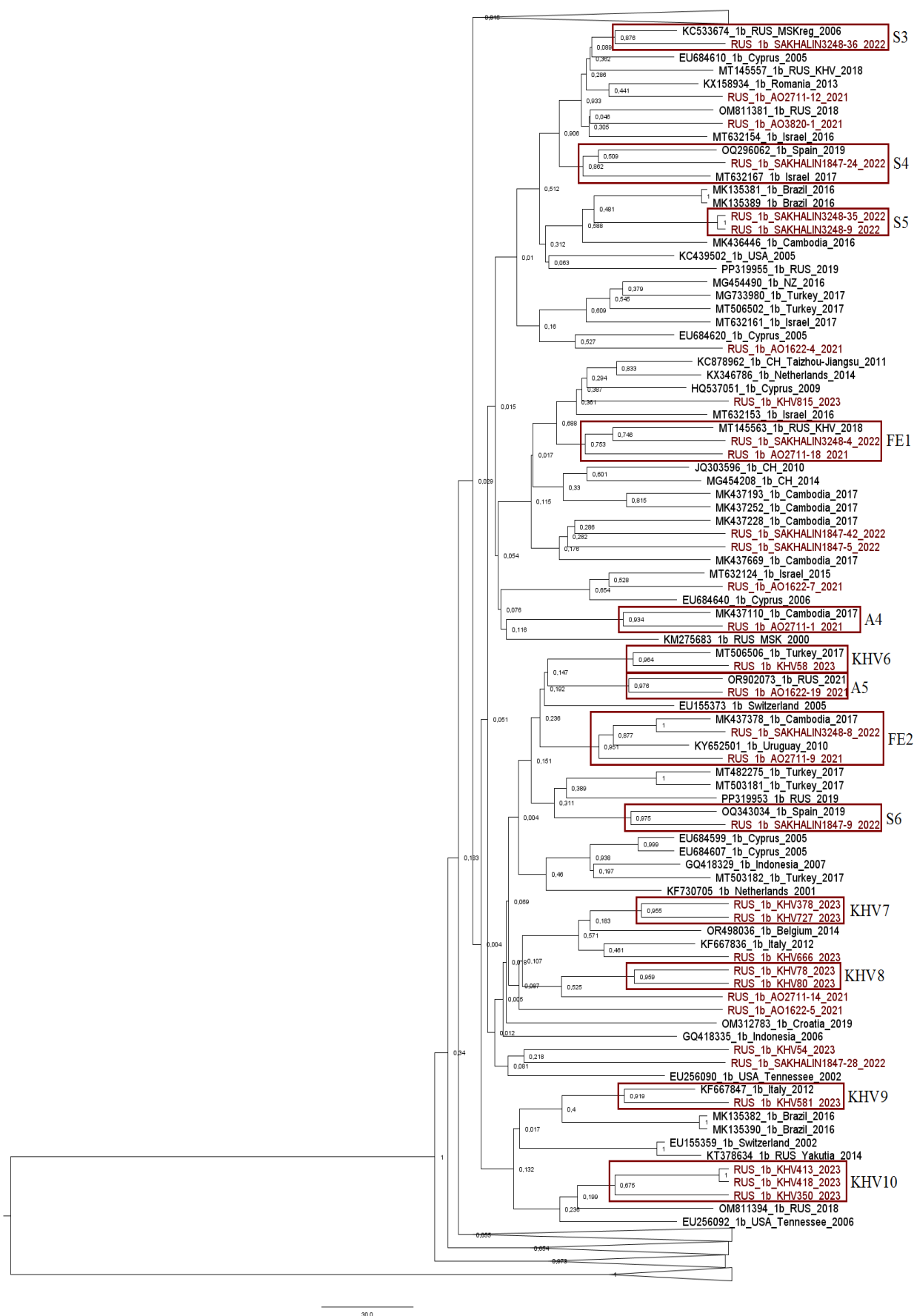


Рис. 2.2. Филогенетическое дерево 1 субтипа ВГС.

Примечание: Филогенетическое дерево построено с помощью метода байесовской статистики. Латинскими буквами выделены кластеры с достаточным уровнем апостериорной поддержки. Красным цветом отмечены последовательности, полученные от пациентов с моноинфекцией ХГС в ходе исследования.

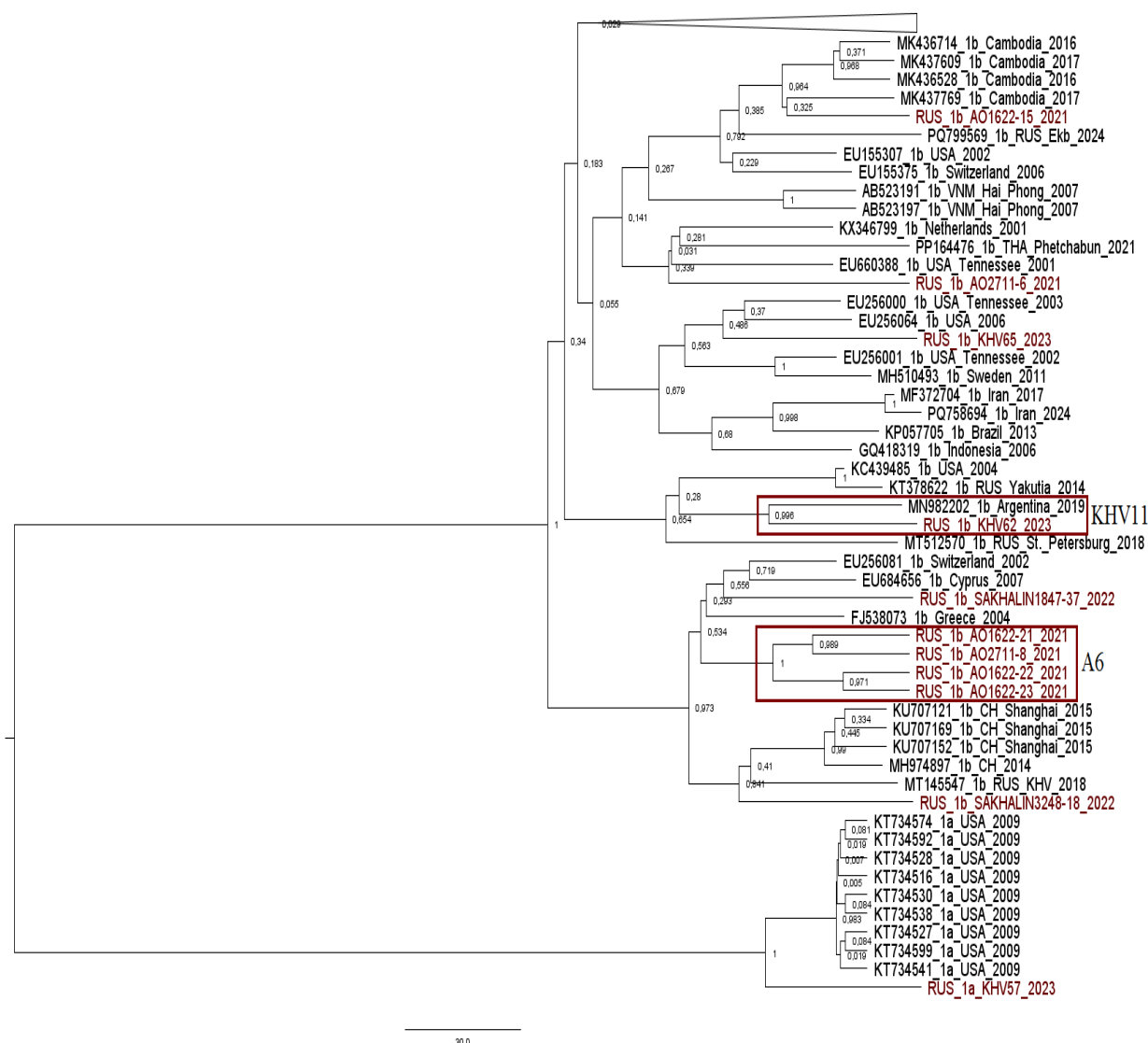


Рис. 2.3. Филогенетическое дерево 1 субтипа ВГС.

Примечание: Филогенетическое дерево построено с помощью метода байесовской статистики. Латинскими буквами выделены кластеры с достаточным уровнем апостериорной поддержки. Красным цветом отмечены последовательности, полученные от пациентов с моноинфекцией ХГС в ходе исследования.

Среди стран дальнего зарубежья, филогенетические связи с образцами из Амурской области чаще всего были установлены с изолятами из США (кластеры A1, A2, A3, рис. 2.1). Кластер A2, помимо нуклеотидной последовательности из США, включал Израильский сиквенс. В кластере A4 (рис. 2.2) последовательность из Амурской области сгруппировалась с сиквенсом из Камбоджи.

Субтип 1a (рис. 2.3) был представлен только одной последовательностью из Хабаровска. В ходе поиска схожих сиквенсов с помощью онлайн-программы Blast, наиболее близкими оказались нуклеотидные последовательности из США, однако при построении филогенетического дерева изолят из Хабаровского края кластеризовался отдельно. Учитывая полученную филогенетическую картину, а также факт преимущественного распространения 1a субтипа в странах Северной Америки (США и Канаде), можно предположить высокую вероятность североамериканского происхождения сиквенса из Хабаровского края.

Отсутствие крупных кластеров было характерно и для выборки сиквенсов 3a субтипа ВГС. Образовавшиеся клады можно разделить на состоящие из российских вариантов и включающие иностранные последовательности, причем, как и в случае с 1 генотипом, наблюдалась частая кластеризация с изолятами из зарубежных стран.

Сиквенсы из Хабаровского края образовали кластеры со значимой апостериорной поддержкой с изолятами из Кипра (кластер A, рис. 3.1), США и Афганистана (кластер G, рис. 3.1), а также Германии (кластер K, рис. 3.2). Лишь один кластер был сформирован локальными вариантами вируса (кластер J, рис. 3.2).

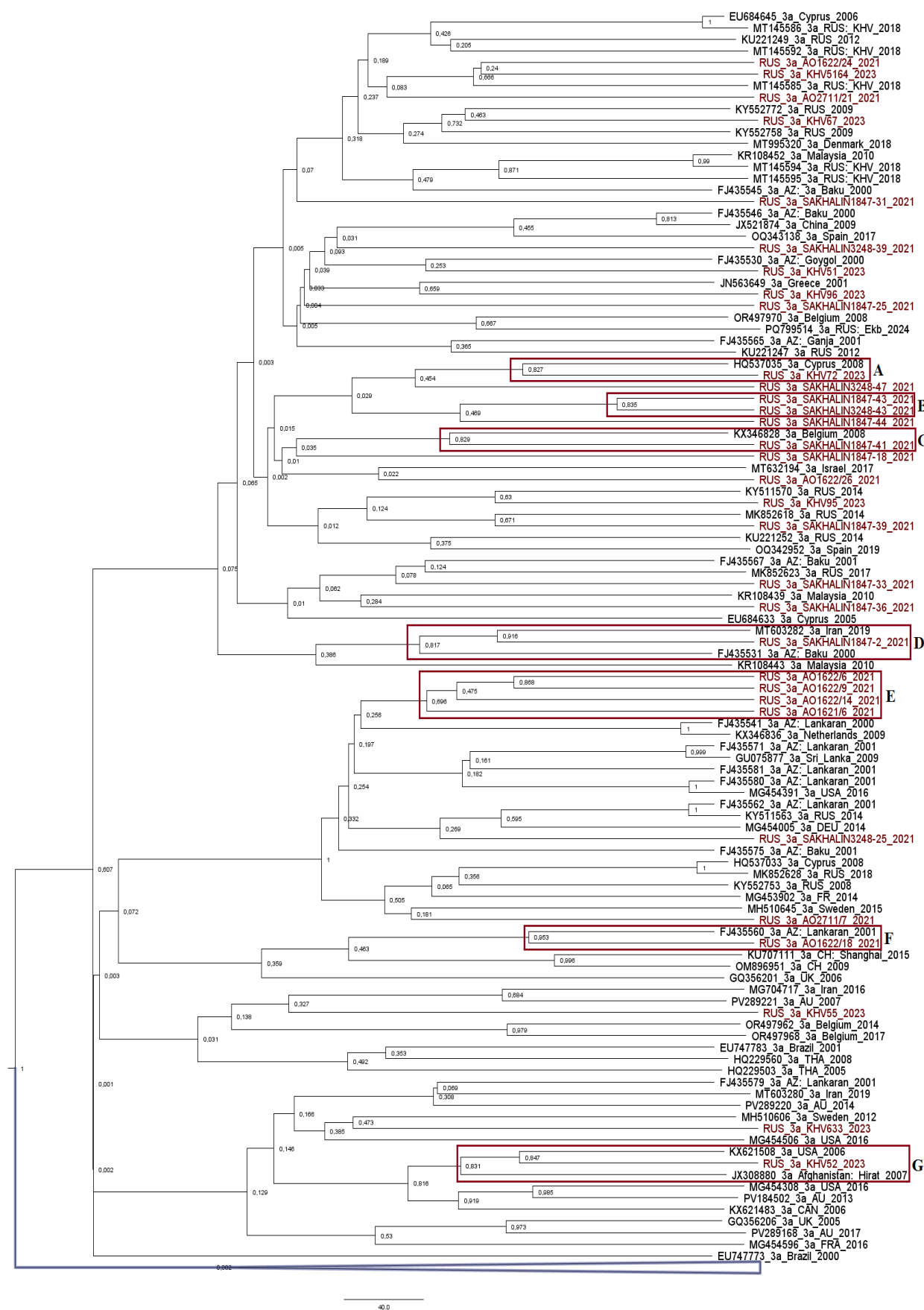


Рис. 3.1. Филогенетическое дерево 3 субтипа ВГС.

Примечание: Филогенетическое дерево построено с помощью метода байесовской статистики. Латинскими буквами выделены кластеры с достаточным уровнем апостериорной поддержки. Красным цветом отмечены последовательности, полученные от пациентов с моноинфекцией ХГС в ходе исследования.

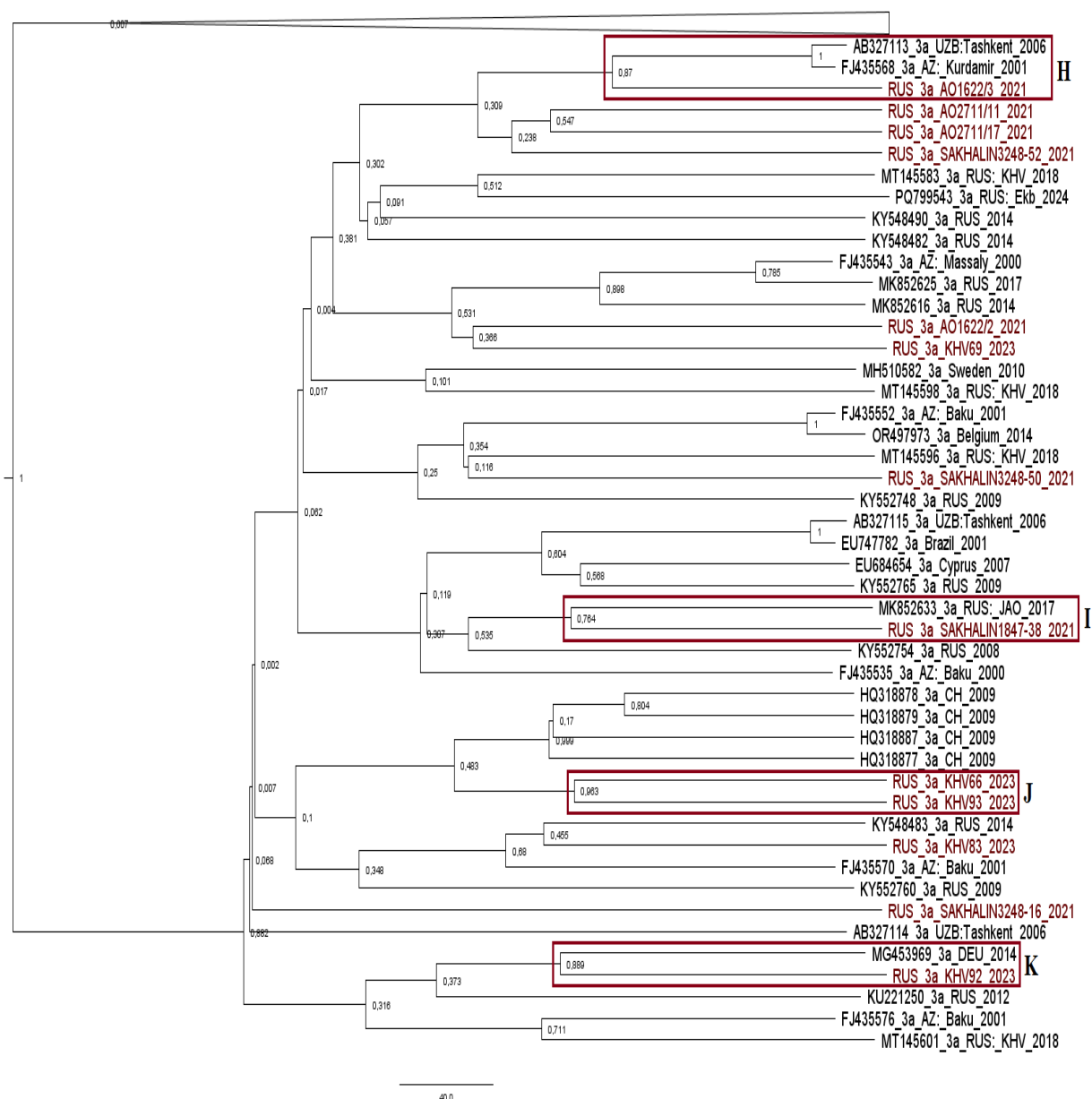


Рис. 3.2. Филогенетическое дерево 3 субтипа ВГС.

Примечание: Филогенетическое дерево построено с помощью метода байесовской статистики. Латинскими буквами выделены кластеры с достаточным уровнем апостериорной поддержки. Красным цветом отмечены последовательности, полученные от пациентов с моноинфекцией ХГС в ходе исследования.

Смешанные кластеры F и H (рис. 3.1, 3.2) демонстрируют наличие эволюционного родства между сиквенсами из Амурской области, Азербайджана (кластер F и H) и Узбекистана (кластер F), что может указывать на существование эпидемиологических связей между этими регионами.

Отдельная клада (кластер E, рис. 3.1), сформированная 4 нуклеотидными последовательностями, изолированными на территории Амурской области, может быть примером локальной сети передачи вируса, однако значения апостериорной поддержки в узле составили всего 0,69, в связи с чем целесообразно расширение выборки для подтверждения данного вывода.

В Сахалинской области, помимо монофилетического кластера, включающего 2 локальных сиквенса (кластер B, рис. 3.1), установлено наличие филогенетических связей между местными изолятами и образцами из Еврейской автономной области (кластер I, рис. 3.2), Бельгии (кластер C, рис. 3.1), Ирана и Азербайджана (кластер D, рис. 3.1).

Филогенетический анализ изолятов 2а субтипа ВГС (рис. 4) позволяет предположить локальную циркуляцию различных линий вируса в Хабаровском крае, на что указывает

кластеров со значимым уровнем апостериорной поддержки (0,75 и более). Два кластера представляют особый интерес.

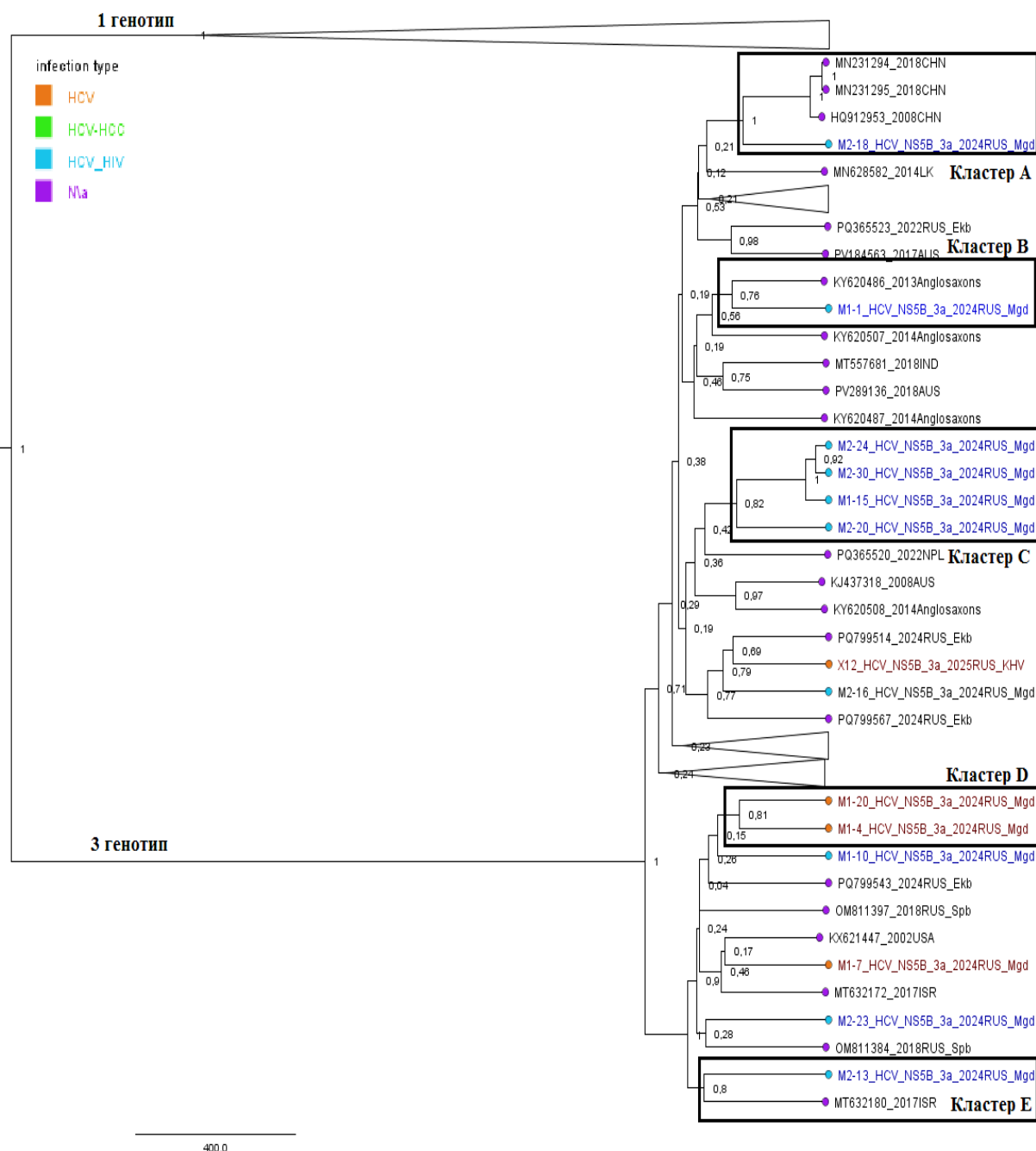


Рис. 5. Филогенетическое дерево 3а субтипа ВГС.

Примечание: Филогенетическое дерево построено с помощью метода байесовской статистики. Латинскими буквами выделены кластеры с достаточным уровнем апостериорной поддержки. Красным и синим цветом отмечены последовательности, полученные в ходе исследования: красные – от пациентов с моноинфекцией ХГС, синие – от пациентов с сочетанной инфекцией ВИЧ-ХГС.

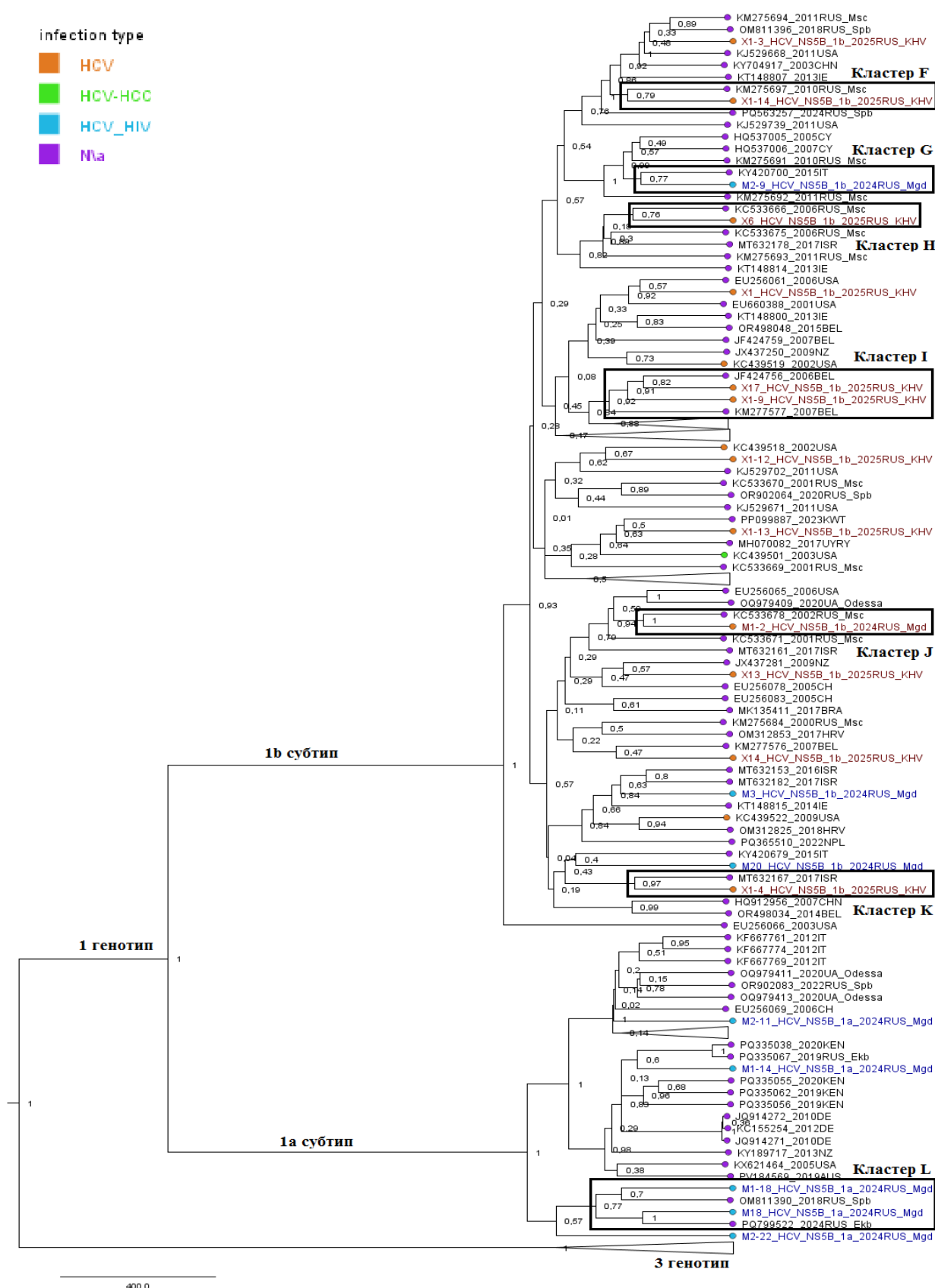


Рис. 6. Филогенетическое дерево 1 генотипа ВГС.

Примечание: Филогенетическое дерево построено с помощью метода байесовской статистики. Латинскими буквами выделены кластеры с достаточным уровнем апостериорной поддержки. Красным и синим цветом отмечены последовательности, полученные в ходе исследования: красные – от пациентов с моноинфекцией ХГС, синие – от пациентов с сочетанной инфекцией ВИЧ-ХГС.

Один из них включал 4 нуклеотидных последовательности, полученные от пациентов с ВИЧ-инфекцией, сочетанной с ХГС, проживавших в Магаданской области (кластер С, рис. 5), второй кластер (кластер А, рис. 5) объединил три сиквенса из Китая и один из Магаданской области. Три оставшихся кластера (рис. 5) включали по две нуклеотидных последовательности: изолят из Магаданской области и сиквенс, полученный в ходе крупного исследования, проводившегося в англоязычных странах (Boston study, кластер В), две последовательности из Магаданской области, полученные от пациентов с ХГС-моноинфекцией (кластер D), кластер Е был сформирован сиквенсами из Магаданской области и Израиля.

Кластеры, сформированные сиквенсами 1 генотипа ВГС, как правило, включали не более двух последовательностей из одного региона. Следует обратить внимание на то, что кластеризация последовательностей 1b субтипа, полученных в ходе исследования, происходила в основном с сиквенсами, загруженными из генбанка, что указывает на отсутствие между ними близкого генетического родства и высокую вероятность их независимого происхождения. Например, изоляты 1b субтипа из Хабаровского края и Магаданской области образовали несколько клад с московскими сиквенсами (кластеры F, H и J, рис. 6), загруженными из GenBank. Единственным исключением можно считать кластер I (рис. 6), который включал два сиквенса, полученных от пациентов из Хабаровского края с ХГС-моноинфекцией и бельгийские последовательности, что может указывать на европейское происхождение некоторых хабаровских вариантов 1b субтипа ВГС.

Среди зарубежных стран, одна из последовательностей 1b субтипа из Хабаровского края сформировала кластер с высоким уровнем апостериорной поддержки с сиквенсом из Израиля (кластер K, рис. 6), а у изолята из Магаданской области определенная филогенетическая близость отмечалась с изолятом из Италии (кластер G, рис. 6), что может свидетельствовать об обмене генетическими вариантами ВГС как внутри субъектов ДФО, так и с другими российскими регионами и странами дальнего зарубежья.

Ветвь 1a субтипа ВГС образовала кладу с довольно высоким уровнем апостериорной поддержки (0,77) и включала российские сиквенсы из Магаданской области, Екатеринбурга и Северо-Западного федерального округа (кластер L, рис. 6).

Полученную в ходе филогенетического анализа картину, для которой характерно образование отдельных клад, включающих несколько последовательностей, с высоким уровнем апостериорной поддержки, можно интерпретировать как локальную передачу вируса, что нередко наблюдается среди лиц, потребляющих инъекционные психоактивные вещества, особенно в случае наличия сочетанных инфекций [17, 18, 19]. Ярким примером служит кластер С, образованный сиквенсами 3a субтипа вируса (рис. 6), которые были изолированы от ВИЧ-позитивных лиц, проживавших в Магаданской области. Такая кластеризация указывает на высокую генетическую близость образцов, которые, вероятно, циркулируют в рамках единой сети передачи ВГС в регионе.

В то же время, последовательности, полученные от пациентов с моноинфекцией, отмеченные на дендрограмме красным цветом, в большинстве случаев формировали клады, состоящие не более, чем из двух сиквенсов. В целом, такая кластеризация сиквенсов на дендрограмме может свидетельствовать о наличии множества разрозненных очагов инфекции в регионах.

Заключение

Распределение геновариантов ВГС в полученной выборке из четырех субъектов ДФО (Хабаровский край, Магаданская, Сахалинская и Амурская области) соответствовало среднероссийскому – доминировали 1b и 3a субтипы с преобладанием 1b варианта – 47,8% (75 сиквенсов; 95% ДИ: 40,0 – 55,6%) и 3a варианта – 38,2% (60 сиквенсов; 95% ДИ: 30,8 – 45,9%), соответственно. Минорными оказались 1a субтип и 2 генотип – по 7,0% (11 сиквенсов; 95% ДИ: 3,5 – 11,5%) каждый. Были установлены некоторые особенности генотипического пейзажа в отдельных территориях округа. Например, в Магаданской области преобладал 3a субтип, 1a и 1b геноварианты встречались одинаково часто. В Сахалинской области 3a субтип встречался несколько чаще, чем 1b. В Хабаровском крае и Амурской области более, чем 50% сиквенсов типировались как 1b субтип.

Анализ филогенетических деревьев ВГС показал значительное генетическое разнообразие циркулирующих на территории ДФО вариантов вируса. Характерно формирование не крупных кластеров с высоким уровнем апостериорной поддержки, которые включают последовательности из субъектов ДФО, других регионов РФ, либо зарубежных стран. Признаки локальной передачи вируса прослеживалась в Амурской области для изолятов 1b субтипа вируса, в Хабаровском крае для 2a субтипа вируса и в Магаданской области для 3a субтипа вируса, причем если в случае Амурской области и Хабаровского края сиквенсы были получены от пациентов с моноинфекцией, то в Магаданской области – от пациентов с сочетанной инфекцией ВИЧ-ХГС, что свидетельствует в пользу наличия в регионе сети передачи ВГС среди пациентов с ВИЧ-инфекцией.

Литература

1. ВОЗ. Информационный бюллетень. Гепатит В. 2025. Available from: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/hepatitis-b>; 1. ВОЗ. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/hepatitis-c>.
2. Государственный доклад «О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2024 году», 424 с..
3. Чуланов В.П., Городин В.Н., Сагалова О.И., Иванова М.Р., Кравченко И.Э., Симакова А.И., и др. Бремя вирусного гепатита С в Российской Федерации: от реальной ситуации к стратегии. *Инфекционные болезни*. 2021; 19(4): 52–63. DOI: 10.20953/1729-9225-2021-4-52-63.
4. Ровный В.Б., Жарков А.В., Катичева А.В., Мастерова И.Ю. Роль пангенотипных препаратов прямого противовирусного действия в лечении хронического вирусного гепатита С. *Инфекционные болезни: Новости. Мнения. Обучение*. 2024;13(3):83-88. DOI:10.33029/2305-3496-2024-13-3-83-88.
5. Cheung A., Kwo P. Viral Hepatitis Other than A, B, and C: Evaluation and Management. *Clin Liver Dis* 2020; 24: 405-419; DOI: 10.1016/j.cld.2020.04.008].
6. Te H., Doucette K. Viral hepatitis: Guidelines by the American Society of Transplantation Infectious Disease Community of Practice. *Clin Transplant* 2019; 33:e13514; DOI: 10.1111/ctr.13514.
7. Simmonds P., Bukh J., Combet C., Deleage G., Enomoto N., Feinstone S., et al. Consensus proposals for a unified system of nomenclature of hepatitis C virus genotype. *Hepatology*. 2005. 42: 962–73. DOI: 10.1002/hep.20819.
8. Borgia S.M., Hedskog C., Parhy B., Hyland RH., Stamm L.M., Brainard D.M., 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. 218(11):1722– 1729. DOI: 10.1093/infdis/jiy401.
9. Пименов Н.Н., Комарова С.В., Карандашова И.В., Цапкова Н.Н., Волчкова Е.В., Чуланов В.П. Гепатит С и его исходы в России: анализ заболеваемости, распространенности и смертности до начала программы элиминации инфекции. *Инфекционные болезни*. 2018;16(3):37-45. DOI: 10.20953/1729-9225-2018-3-37-45.
10. Pimenov N., Kostyushev D., Komarova S., Fomicheva A., Urtikov A., Belaia O., et al. Epidemiology and Genotype Distribution of Hepatitis C Virus in Russia. *Pathogens*. 2022 Dec 6;11(12):1482. DOI: 10.3390/pathogens11121482.
11. Акимов И.А., Тимофеев Д.И., Мавзютов А.Р., Иванов М.К. Выявление циркулирующей рекомбинантной формы RF1_2k/1b вируса гепатита С в сыворотке крови пациентов методом ОТ-ПЦР в режиме реального времени. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2021;66(2):122-128. DOI: 10.51620/0869-2084-2021-66-122-128.
12. Дементьева Н.Е., Калинина О.В., Знойко О.О., Беляков Н.А., Жебрун А.Б. Циркулирующая рекомбинантная форма вируса гепатита С RF2k/1b: проблемы диагностики и терапии. *ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии*. 2016;8(1):42-52. DOI: 10.22328/2077-9828-2016-8-1-42-52.
13. Kichatova V.S., Kyuregyan K.K., Soboleva N.V., Karlsen A.A., Isaeva O.V., Isaguliants M.G., et al. Frequency of Interferon-Resistance Conferring Substitutions in Amino Acid Positions 70 and 91 of Core Protein of the Russian HCV 1b Isolates Analyzed in the T-Cell Epitopic Context. *J Immunol Res*. 2018;2018:7685371. DOI: 10.1155/2018/7685371.
14. Hall T.A. BioEdit: A User-Friendly Biological Sequence Alignment Editor and Analysis Program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium Series*. 1999. 41, 95-98.
15. Bouckaert R., Vaughan T.G., Barido-Sottani J., Duchêne S., Fourment M., Gavryushkina A., et al. BEAST 2.5: An advanced software platform for Bayesian evolutionary analysis. *PLoS computational biology*. 2019;15(4), e1006650.
16. Nguyen L.T., Schmidt H.A., von Haeseler A., Minh B.Q. IQ-TREE: a fast and effective stochastic algorithm for estimating maximum-likelihood phylogenies. *Mol Biol Evol*. 2015;32(1):268-274. DOI: 10.1093/molbev/msu300.
17. Kouyos R.D., Rauch A., Böni J., Yerly S., Shah C., Aubert V., et al. Clustering of HCV coinfections on HIV phylogeny indicates domestic and sexual transmission of HCV. *Int J Epidemiol*. 2014;43(3):887-896. DOI: 10.1093/ije/dyt276.
18. Falade-Nwulia O., Hackman J., Mehta S.H., McCormick S.D., Kirk G.D., Sulkowski M. et al. Factors associated with phylogenetic clustering of hepatitis C among people who inject drugs in Baltimore. *BMC Infect Dis*. 2020;20(1):815. DOI: 10.1186/s12879-020-05546-x.
19. Bartlett S.R., Applegate T.L., Jacka B.P., Martinello M., Lamoury F.M., Danta M. et al. A latent class approach to identify multi-risk profiles associated with phylogenetic clustering of recent hepatitis C virus infection in Australia and New Zealand from 2004 to 2015. *J Int AIDS Soc*. 2019;22(2):e25222. DOI: 10.1002/jia2.25222.