

© Коллектив авторов, 2014

В.П. ЧУЛАНОВ, А.Д. НЕВЕРОВ, И.В. КАРАНДАШОВА, Н.Н. ПИМЕНОВ, Г.А. ШИПУЛИН

## МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ В ЭПИДЕМИОЛОГИИ ВИРУСНЫХ ГЕПАТИТОВ: ДОСТИЖЕНИЯ И ПЕРСПЕКТИВЫ

Центральный НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва

*Вирусные гепатиты являются широко распространёнными инфекционными болезнями и остаются значимой проблемой здравоохранения во всем мире. Развитие молекулярно-генетических методов исследования позволило значительно расширить представления о биологии возбудителей этих инфекций. В статье описаны современные взгляды на генетическую классификацию вирусов гепатитов А и В, приводятся данные о распространённости их генотипов и субтипов в мире и в России. На примере возбудителей этих инфекций раскрываются возможности и перспективы использования молекулярно-генетических подходов для изучения характеристик эпидемического процесса вирусных гепатитов.*

**Ключевые слова:** вирус гепатита А, вирус гепатита В, вспышка гепатита А, генотип, субтип, штамм.

V.P. CHULANOV, A.D. NEVEROV, I.V. KARANDASHOVA, N.N. PIMENOV, G.A. SHIPULIN

## MOLECULAR GENETIC STUDIES IN THE EPIDEMIOLOGY OF VIRAL HEPATITIS: PROGRESS AND PROSPECTS

Central Research Institute of Epidemiology, Russian Inspectorate for the Protection of Consumer Rights and Human Welfare, Moscow

*Viral hepatitis are common infectious diseases and remain an important public health problem worldwide. The development of molecular genetic techniques has greatly expanded our understanding of the biology of these infectious pathogens. This article describes the modern concepts of the genetic classification of hepatitis A and B viruses and presents data on the prevalence of their genotypes and subtypes in the world and in Russia. Using these infectious pathogens as an example, the authors unveil the possibilities and prospects for the use of molecular genetic approaches to studying the characteristics of the epidemic process of viral hepatitis.*

**Key words:** hepatitis A virus, hepatitis B virus, hepatitis A outbreak, genotype, subtype, strain.

С развитием молекулярно-генетических методов и появлением возможности определять генетические характеристики возбудителей инфекционных болезней было положено начало новому направлению эпидемиологических исследований. Использование молекулярно-генетических методов позволяет идентифицировать возбудителя инфекции, более эффективно устанавливая связь между случаями инфицирования, определять факторы передачи возбудителя, проводить мониторинг географического распространения генетических вариантов возбудителя, выявлять генетические маркеры факторов вирулентности и идентифицировать факторы риска.

Вирусные гепатиты до настоящего времени остаются значимой проблемой здравоохранения как в России, так и в мире. По оценкам ВОЗ, в мире ежегодно регистрируется около 1,5 млн случаев гепатита А [1], а общее число заболевших может составлять десятки миллионов в год [2]. Число больных хроническими формами гепатита В в мире оценивается в 240 млн человек и около 600 тыс. человек в год умирают от острых форм инфекции и исходов хроничес-

кого гепатита В [3]. В России в течение последних лет наблюдается неуклонное снижение заболеваемости гепатитом А, однако в 2012 г. ее показатель оставался достаточно высоким — 5,5 на 100 тыс. населения. Заболеваемость хроническими формами инфекции, вызванной вирусом гепатита В (ВГВ), в 2012 г. составляла 33,7 случаев на 100 тыс. населения и в 23,7 раза превышала заболеваемость острым гепатитом В. В настоящей статье на примере гепатитов А и В раскрываются современные возможности и перспективы использования молекулярно-генетических подходов к изучению эпидемического процесса вирусных гепатитов.

### Генетическое разнообразие вируса гепатита А и его эпидемиологическое значение

На основе гомологии нуклеотидных последовательностей региона VP1/2A генома вируса гепатита А (ВГА) было выделено 6 его генотипов (I–VI) [4]. Генотипы I и II были изолированы только от больных людей, генотипы IV–VI — только от обезьян,

генотип III был выявлен как у человека, так и у приматов. Каждый из генотипов I, II и III подразделяется на 2 субтипа – А и В. Наиболее распространенным в мире является субтип IA и IIIA.

Особенности циркуляции генетических вариантов ВГА на различных территориях изучались в ряде работ. В исследовании, положившем начало генетической классификации ВГА, было показано, что в пределах субтипа IA существует филогенетическое родство изолятов, циркулирующих в одном географическом регионе. Были выявлены кластеры изолятов из Японии и Китая, с территории бывшего СССР и Таиланда [4]. O.V. Nainan и соавт. [5] проанализировали более 3500 изолятов ВГА из США и других стран мира и доказали наличие географической кластеризации штаммов ВГА.

Нами были изучены генетические характеристики 1071 изолята ВГА из 30 регионов РФ, входящих в состав всех восьми федеральных округов (ФО), а также ряда стран СНГ. В результате исследования было установлено, что большинство (73%) изолятов ВГА из РФ относятся к субтипу IA, а оставшиеся 27% принадлежат субтипу IIIA. Случаи гепатита А, вызванные субтипом IB, в РФ единичны и, за редким исключением, являются завозными [6].

Во всех ФО доминирующим субтипом ВГА является субтип IA, доля которого составляет от 62% (Дальневосточный ФО) до 94% (Уральский ФО). В ряде регионов значительное место среди выявленных изолятов ВГА занимает субтип IIIA. Так, более четверти всех случаев гепатита А было вызвано данным субтипом вируса в Центральном (30%) и Дальневосточном ФО (38%) (рис. 1, см. на вклейке). Наибольшая доля (62%) субтипа IIIA была выявлена в Республике Саха.

В странах Средней Азии (Таджикистан, Кыргызстан) доминирующим является субтип IIIA ВГА, который составляет более 70% всех случаев. В Украине доминирующим субтипом ВГА является субтип IA, доля которого превышает 85%.

При филогенетическом анализе изолятов ВГА субтипа IA из России и стран СНГ было выявлено, что большинство из них статистически достоверно группируются в 2 отдельных кластера, отличных от средиземноморского, американских и азиатско-тихоокеанских. Выявленные особенности кластеризации штаммов ВГА субтипа IA, циркулирующего в РФ, странах СНГ и других странах мира, доказывают возможность использования филогенетического анализа для подтверждения фактов завозных случаев гепатита А из стран дальнего зарубежья.

В пределах крупных географических кластеров филогенетически родственных штаммов ВГА субтипа IA часто можно выделить подкластеры штаммов, циркулирующих на отдельных ограниченных территориях. Так, для юга Таиланда было показано существование характерных для данной территории штаммов ВГА, выявленных на протяжении 4 лет наблюдения [7]. Изоляты ВГА, циркулирующие на территории центрального и южного районов Туниса на протяжении 2001–2004 гг., формируют на филогенетическом дереве соответствующие кластеры родственных штаммов [8].

Интересные данные были получены по филогенетической географии ВГА в Южной Америке. В работе M. Costa-Mattioli и соавт. [9] было показано, что изоляты ВГА IA, циркулирующие на территории Аргентины, Уругвая и Чили, обладают высокой генетической вариабельностью, и кластеризация штаммов на дереве по географическому признаку не обнаруживается. В последующем детальном исследовании ВГА в Аргентине было показано, что штаммы из этой страны образуют 2 статистически значимых кластера, при этом географически штаммы перемешаны – на одной территории встречаются штаммы из обоих кластеров [10]. Интересно, что штаммы только одного из этих кластеров группируются с референс-штаммами из Италии, Туниса и США.

Иная картина наблюдается с разнообразием штаммов ВГА на территории Амазонии (Бразилия), где инфицирование гепатитом А происходит, в основном, в детском возрасте, а заболеваемость взрослого населения исключительно низка. В работе V.S. De Paula и соавт. [11] было установлено, что большинство штаммов ВГА, циркулирующих на территории Амазонии, группируется в отдельный кластер и имеет филогенетическое сходство со штаммами, циркулирующими на других территориях Бразилии.

Многолетняя циркуляция штаммов ВГА на одной территории также была показана для развитых стран – Италии [12], Японии [13] и США [5]. Штаммы, циркулирующие на территории США, группируются на дереве в 3 различных кластера. Один из этих кластеров включает штаммы, циркулирующие на территории соседней Мексики. При этом на территории США штаммы из этой группы преимущественно встречались у выезжавших в Мексику либо у контактировавших с приезжими из этой страны и вызывали пищевые вспышки, связанные с употреблением зеленого лука, импортируемого из Мексики [14].

Детальный анализ филогенетических взаимоотношений штаммов субтипа IA, выявленных в РФ и странах СНГ, показал, что можно выделить ряд статистически достоверных кластеров, соответствующих отдельным географическим регионам. Единственный кластер формируют изоляты ВГА, выявленные у больных гепатитом А, из регионов Европейской части РФ. Два кластера соответствуют изолятам ВГА, выявленным на территории Южного и Северо-Кавказского ФО и в Украине. Большинство изолятов IA субтипа, выявленных в Таджикистане и Кыргызстане, группируются также в два кластера. Отдельную ветвь на филогенетическом дереве формируют изоляты, циркулирующие в Республике Тыва. Изоляты ВГА субтипа IA, выявленные в Сахалинской области и Хабаровском крае, также формируют отдельный кластер. Таким образом, анализ позволил выявить 7 кластеров ВГА субтипа IA, характерных для регионов России и стран СНГ: кластер Европейской части РФ, 2 южных кластера, 2 среднеазиатских кластера, тувинский кластер и дальневосточный кластер (рис. 2, см. на вклейке).

Необходимо отметить, что штаммы кластера Европейской части РФ являются наиболее распространенными на территории РФ и вызывают боль-

шинство вспышек гепатита А. Штаммы тувинского кластера субтипа IA были обнаружены только в данном регионе, что, вероятно, связано с особенностями его географического и социально-экономического положения. Штаммы, формирующие дальневосточный кластер, филогенетически близки к средиземноморским штаммам, выявившимся в Тунисе, Италии и Испании. Анализ генетического разнообразия штаммов ВГА в Сахалинской области и Хабаровском крае на протяжении 2006–2007 гг. показал, что генетические варианты, формирующие дальневосточный кластер, циркулируют на данной территории на протяжении длительного времени и не являются генетически идентичными. Это свидетельствует о длительной эволюции описанных штаммов ВГА на данной территории, и случаи гепатита А, ими вызванные, не могут считаться завозными. Филогенетический анализ штаммов III генотипа ВГА выявил наличие трех кластеров для штаммов субтипа IIIA, один из которых (основной кластер) содержал абсолютное большинство российских штаммов и штаммов стран СНГ. Абсолютное большинство штаммов из стран Средней Азии, выявленных в данной работе, образовывали единый кластер. Штаммы субтипа IIIA, обнаруженные на территории Республики Саха (Якутия), образовывали целую группу кластеров, филогенетически отличных от среднеазиатских. Отдельным кластером, достоверно отличающимся от других, были представлены штаммы, выявленные в Кемеровской области [15].

Таким образом, филогенетический анализ штаммов ВГА субтипов IA и IIIA, циркулирующих в РФ, Украине, Таджикистане и Кыргызстане, позволил выявить ряд географических кластеров, характерных для стран Средней Азии и отдельных регионов РФ. Это демонстрирует возможность использования данного подхода при эпидемиологической диагностике не только для установления факта завоза случаев гепатита А из стран дальнего зарубежья, но и для выявления завозных случаев заболевания из отдельных регионов РФ и стран СНГ.

ВГА является одним из самых стабильных РНК-содержащих вирусов. Скорость его генетической эволюции составляет  $9,76 \times 10^{-4}$  нуклеотидных замен на сайт в год [16]. Скорость эволюции в синонимичных позициях кодона составляет  $1,3-4,0 \times 10^{-3}$ , что на порядок ниже, чем оценки для других членов семейства *Picornaviridae* [16, 17].

Следствием относительно небольшой скорости эволюции вируса является генетическая однородность вирусной популяции, выявляемой у пациентов во время вспышек гепатита А. Изоляты, выделенные во время вспышек и охарактеризованные по наиболее вариабельным фрагментам генома, обычно относятся к одному штамму (генетически идентичны у всех пациентов по маркерным последовательностям генома) [18]. Во время вспышек с установленным источником инфицирования изоляты ВГА, выделенные от пациентов, идентичны между собой и идентичны изолятам, выделенным из источника [19, 20]. Описаны случаи вспышек с продолжительным подъемом заболеваемости, при

которых выявлялись несколько генетически различных штаммов в пределах одного населенного пункта или района и в группах риска [21–23]. Также выявление нескольких штаммов ВГА было описано во время массовых пищевых вспышек, источником которых были морепродукты [24].

За период с 2005 по 2010 г. нами было проанализировано 20 вспышек гепатита А, имевших место в 7 ФО. В 5 (25%) ведущим был установлен водный путь, в 4 (20%) – пищевой путь и в 9 (45%) – контактно-бытовой путь передачи возбудителя. 2 (10%) вспышки имели смешанный характер, при них отмечались как контактно-бытовой, так и водный пути передачи. 15 (75%) вспышек были вызваны субтипом IA ВГА, тогда как остальные 5 – субтипом IIIA. При филогенетическом анализе была выявлена значительная генетическая гетерогенность как среди изолятов субтипа IA, так и среди изолятов субтипа IIIA. Анализ штаммов ВГА, циркулировавших в пределах каждой из изученных вспышек, позволил в ряде случаев установить не только характер вспышки (завоз или распространение локального штамма), но также выдвинуть гипотезы о механизме ее развития и доказать единство фактора передачи возбудителя, подтвердить или опровергнуть связь как отдельных случаев заболевания, так и отдельных вспышек между собой [25]. Анализ молекулярно-генетических характеристик штаммов ВГА, циркулирующих во время вспышки, дает ценную дополнительную информацию для установления источника возбудителя инфекции, путей и факторов передачи, а также временных и пространственных границ очага.

### Определение генетических характеристик вируса гепатита В в эпидемиологических исследованиях

В 70-х годах прошлого века в ряде исследований, выполненных с использованием моноклональных антител, было выделено 9 различных субтипов (серотипов) HBsAg (ayw1, ayw2, ayw3, ayw4, ayt, adw2, adw4, adrq-, adrq+) [26]. Определение субтипа HBsAg пытались применить для изучения географической распространенности вариантов вируса гепатита В (ВГВ), однако дальнейшие исследования показали, что субтипы HBsAg не отражают истинного генетического разнообразия вируса [27]. К 1988 г. были секвенированы полные нуклеотидные последовательности 18 изолятов ВГВ различных субтипов, что послужило основой для разработки первой генетической классификации. Н. Okamoto и соавт. [28] первоначально разделили имеющиеся изоляты ВГВ на 4 генетических группы, обозначенные А, В, С, D. Две новые группы, обозначенные Е и F, были выделены на основе анализа вариабельности в S-гене подтипов ayw4 и ayd4 [29]. Позднее были описаны еще 2 генотипа – G и H [30]. В последние несколько лет в литературе появились сообщения об обнаружении в азиатском регионе новых генетических вариантов ВГВ – I и J [31, 32].

Генотипы А, В, С, D и F сегодня принято разделять на ряд субгенотипов, которые обозначают арабскими цифрами. Для генотипа А известно 3 субгеноти-

па – А1, А2, А3. Для генотипа В точно установлено существование шести субгенотипов, для генотипов С и D – пяти субгенотипов и для генотипа F – четырех субгенотипов [33, 34]. Возможно, субгенотипическая классификация генотипов ВГВ будет дополняться, так как имеются сообщения о выделении ранее неизвестных генетических вариантов вируса.

Генотип А встречается во всех регионах земного шара, однако превалирует в Северной Америке, Западной Европе и Центральной Африке. Генотипы В и С встречаются в Юго-Восточной Азии. Генотип D является вторым по распространенности генотипом и доминирует в странах Средиземноморья, Индии, Восточной Европе и Северной Америке [35]. Генотип E превалирует в Западной Африке; генотип F – в Южной и Центральной Америке, на Аляске; генотип G – в Центральной и Северной Америке, а также в Европе [36–39]. Генотип H был обнаружен в Центральной Америке, Мексике и США [40]. Генотипы I и J были выявлены в Лаосе и Японии соответственно [31, 41]. Однако набирающие силу с каждым годом миграционные процессы приводят к постепенному стиранию четких границ географической распространенности тех или иных генотипов. В крупномасштабном исследовании, охватившем 17 гепатологических центров в США, были зарегистрированы 7 генотипов ВГВ: А (33%), В (21%), С (34%), D (9%), E (1%), F (1%) и G (1%). Кроме того, была выявлена достоверная зависимость между расовой принадлежностью и генотипом ВГВ. Так, генотип А был выявлен у белых и афроамериканцев, в то время как генотипы В и С преобладали среди азиатов. У американцев, родившихся в США, Европе, на Дальнем Востоке и в Юго-Восточной Азии, с наибольшей частотой выявлялись генотипы А, D, С, В соответственно [42].

Нами были изучены генетические характеристики 4328 изолятов ВГВ из 36 регионов РФ, входящих в состав всех восьми ФО, и из ряда стран СНГ. Результаты исследования показали, что в РФ большинство изолятов ВГВ (85%) относится к генотипу D, вторым по частоте (10,7%) является генотип А, 3,2% изолятов принадлежит генотипу С и в 1,1% случаев выявляются другие генотипы, сочетанные генотипы и рекомбинантные штаммы вируса [15, 43]. Во всех ФО доминирующим генотипом ВГВ был D, доля которого варьировала от 70 до 97,9%. В отдельных субъектах РФ [Республика Саха (Якутия), Кабардино-Балкарская Республика] значительную долю составлял генотип А (от 40 до 50%), а в Чукотском АО была существенно больше доля генотипа С (24,3%). Выявленные особенности могут быть следствием как географических характеристик территории, так и этнических различий, определяющих условия относительной изоляции популяции, проживающей на данной территории. В Армении, Украине и Кыргызстане доминирующим также был генотип D, который составлял более 80% случаев. Вторым по частоте встречаемости был генотип А (рис 3., см. на вклейке).

При анализе возрастных особенностей распределения генотипов ВГВ в РФ было выявлено, что наибольшая доля (17,7%) больных с геноти-

пом А наблюдалась в возрастной группе 21–30 лет, несколько меньшая – в возрастных группах 15–20 и 31–40 лет (14,5 и 9,3% соответственно). Наименьшая доля больных с генотипом А ВГВ была в возрастных группах 0–14, 41–50 лет и 51 год и старше (4,4, 7,2 и 3,2% соответственно). Выявленные отличия распределения генотипов ВГВ в различных возрастных группах были статистически достоверны (критерий Краскела–Уоллиса;  $p < 0,001$ ) [15].

При филогенетическом анализе было установлено, что каждый из генотипов А и С в России представлен только одним субгенотипом – А2 и С1 соответственно. Доминирующий на территории России генотип D характеризуется большим генетическим разнообразием и представлен тремя субгенотипами – D1, D2 и D3.

Российские штаммы ВГВ субгенотипа А2 не формируют отдельных кластеров и распределены в пределах филогенетической ветви, соответствующей этому субгенотипу, равномерно между штаммами, выявляющимися в Европе, Северной Америке, Африке и на Дальнем Востоке. Напротив, российские штаммы, принадлежащие субгенотипу С1, имеют тенденцию к формированию отдельного кластера. Штаммы субтипа D1, также как и штаммы субтипа А2, не формируют отдельных филогенетических ветвей в пределах своего кластера. Наблюдается равномерное их распределение по большей части между штаммами ВГВ из Турции, Ирана и Индии, хотя штаммы ВГВ из стран Европы также присутствуют в данном кластере. Субгенотип D2 на филогенетическом дереве представлен в абсолютном большинстве штаммами из России и стран Европы. Выделить значимые филогенетические ветви, отражающие географическую кластеризацию для штаммов данного субтипа, не подставляется возможным. На ветви филогенетического дерева, соответствующей субгенотипу D3, выделяется 2 кластера, один из которых является гетерогенным и включает штаммы ВГВ из стран Европы, Северной Америки, Африки, Азии и России, тогда как другой представлен только российскими штаммами вируса. Результаты анализа показали, что частота выявления субгенотипа D1 убывает с Запада на Восток с 45 до 12%, тогда как частота выявления субгенотипа D3, напротив, возрастает с 15 до 63% [15, 43].

Изучение серотипов ВГВ на основе анализа нуклеотидной последовательности изолятов позволило установить, что распространенность серотипа ad в РФ составляет 13,9%, а серотипа ay – 85%. В ряде исследований было показано, что антитела, специфичные к определенному генотипу вируса, могут в значительной степени определять формирование протективного иммунитета [44]. Также было установлено, что рекомбинантная вакцина против гепатита В, созданная на основе субтипа adw, обеспечивает хорошую, но не оптимальную защиту против гетерологичных штаммов вируса [45]. Принимая во внимание выявленные особенности формирования иммунного ответа, целесообразно учитывать информацию о циркулирующих серотипах ВГВ при выборе вакцинных препаратов для совершенствования программ иммунопрофилактики в РФ.

Одной из важных задач, которую призваны решать молекулярно-генетические методы, является анализ эпидемиологической связи случаев заболевания на основе изучения генетической вариабельности возбудителя. Ключевым вопросом для решения такой задачи является правильный выбор фрагмента генома возбудителя для дальнейшего анализа. Для гепатита В данный вопрос нельзя считать вполне решенным. Одни авторы использовали регион S-гена (поверхностный антиген), другие – Core-регион (белок нуклеокапсида), многие предпочитают использовать сразу несколько регионов генома для секвенирования [46, 47]. Наиболее надежным и довольно обоснованным считается использование полной последовательности генома ВГВ, однако такой подход не может считаться универсальным, поскольку в развивающихся странах, которые эндемичны по ВГВ, секвенирование полной последовательности генома оказывается неоправданно дорогим.

Проведенное нами исследование по реконструкции филогенетических взаимоотношений генетических последовательностей ВГВ в 18 эпидемиологических очагах хронического гепатита В позволило выработать оптимальный алгоритм для расследования случаев групповой заболеваемости на основе молекулярно-генетических методов. Результаты показали, что на первом этапе анализа необходимо провести определение генотипа ВГВ у всех больных из исследуемого очага инфекции. Уже на этом этапе в некоторых ситуациях гипотеза о наличии эпидемиологической связи случаев может быть опровергнута. Если больные из очага инфицированы ВГВ одного и того же генотипа, следует переходить ко второму этапу, включающему секвенирование фрагментов генома вируса и их филогенетический анализ. Было показано, что филогенетический анализ необходимо проводить с применением как минимум двух переменных областей генома ВГВ, содержащих единственную рамку считывания (фрагментов С- и Р-генов). Использование только одной области генома, как ранее предлагалось рядом авторов [48, 49], может быть недостаточным для выявления и доказательства достоверности филогенетической связи изолятов ВГВ. С помощью такого подхода удалось выявить несколько семейных очагов, в пределах которых эпидемиологическая связь случаев была сомнительна. В этих случаях недостаток или неоднозначность данных эпидемиологического анализа были компенсированы результатами филогенетического исследования.

При оценке результатов филогенетического анализа необходимо учитывать факторы, которые могут оказывать влияние на скорость эволюции вируса и, следовательно, снижать вероятность кластеризации. К таким факторам относятся особенности течения хронического гепатита В (сероконверсия по HBeAg) [50], особенности иммунного статуса пациента [51] и противовирусное лечение [52]. Важно отметить, что в исследованиях такого рода необходимо использовать контрольную группу пациентов, не имеющих явной эпидемиологической связи с пациентами из анализируемого очага, но прожи-

вающих в том же населенном пункте или районе. В этом случае уровень доказательности выявленной связи случаев из очага будет значительно выше.

В некоторых случаях для решения вопроса о связи случаев в очаге может быть недостаточно популяционного секвенирования, в связи с чем возникает необходимость предварительного клонирования исследуемых фрагментов генома изолятов ВГВ. В нашем исследовании при популяционном секвенировании фрагмента С-гена ВГВ, выделенного у одного из больных в семейном очаге, была выявлена высокая вырожденность последовательности. Такой результат свидетельствует о высокой гетерогенности вирусной популяции у больного и не позволяет выявить филогенетические связи с другими изолятами ВГВ. Клонирование и последующее секвенирование ряда клонов позволило решить эту проблему: выявить группу клонов, филогенетически связанную с изолятами ВГВ от других случаев из данного очага. Кроме того, детальная реконструкция филогенетических взаимоотношений изолятов ВГВ в пределах данного очага позволила предположить наиболее вероятную цепочку передачи инфекции [15].

Анализ мирового и отечественного опыта применения молекулярно-генетических методов в изучении биологического фактора эпидемического процесса гепатитов А и В показывает их высокую значимость для установления связи между случаями заболевания, идентификации источника возбудителя инфекции, мониторинга географического распространения его генетических вариантов, а также определения путей и факторов передачи. Широкое внедрение молекулярно-генетических методов исследования и филогенетического анализа в систему эпидемиологического надзора за вирусными гепатитами позволит повысить точность эпидемиологической диагностики, эпидемиологического прогноза и будет способствовать повышению качества и эффективности управления эпидемическим процессом.

## Литература

1. WHO. Hepatitis A vaccines. WHO position paper. *Weekly Epidemiol. Rec.* 2000; 75: 38–44.
2. Jacobsen K.H., Wiersma S.T. Hepatitis A virus seroprevalence by age and world region, 1990 and 2005. *Vaccine* 2010; 28(41): 6653–6657.
3. WHO. Factsheet № 204: Hepatitis B. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs204/en/index.html>. Дата просмотра 26.06.2013.
4. Robertson B.H., Jansen R.W., Khanna B., Totsuka A., Nainan O.V., Siegl G. et al. Genetic relatedness of hepatitis A virus strains recovered from different geographical regions. *J. Gen. Virology.* 1992; 73(Pt 6): 1365–1377.
5. Nainan O.V., Xia G., Vaughan G., Margolis H.S. Diagnosis of hepatitis a virus infection: a molecular approach. *Clin. Microbiol. Rev.* 2006; 19(1): 63–79.
6. Чуланов В.П., Пименов Н.Н., Карандашова И.В., Комарова С.В. Современные особенности эпидемического процесса гепатита А в России и странах Европы, определяющие стратегии его профилактики. *Эпидемиол. и инфекц. бол.* 2012; 3: 28–34.

Рис. 1. Распространенность субтипов ВГА в федеральных округах РФ

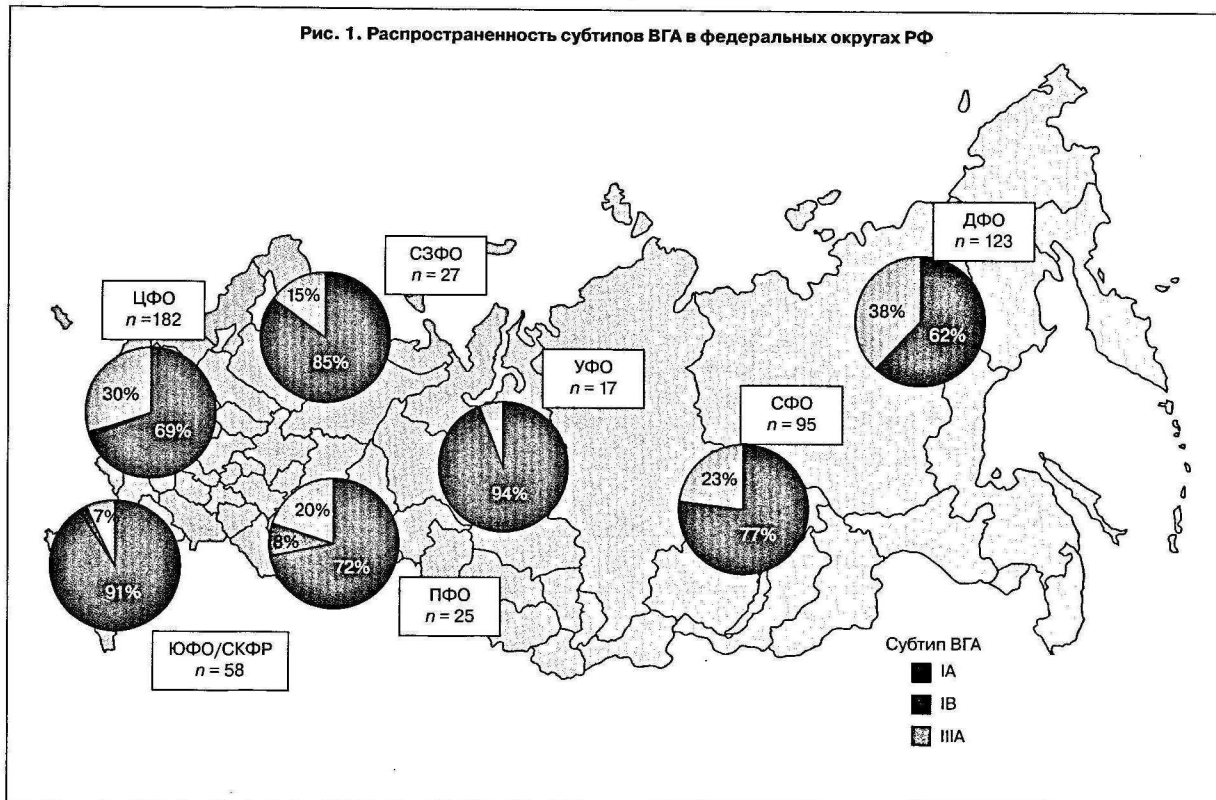


Рис. 3. Распространенность генотипов ВГВ в федеральных округах РФ

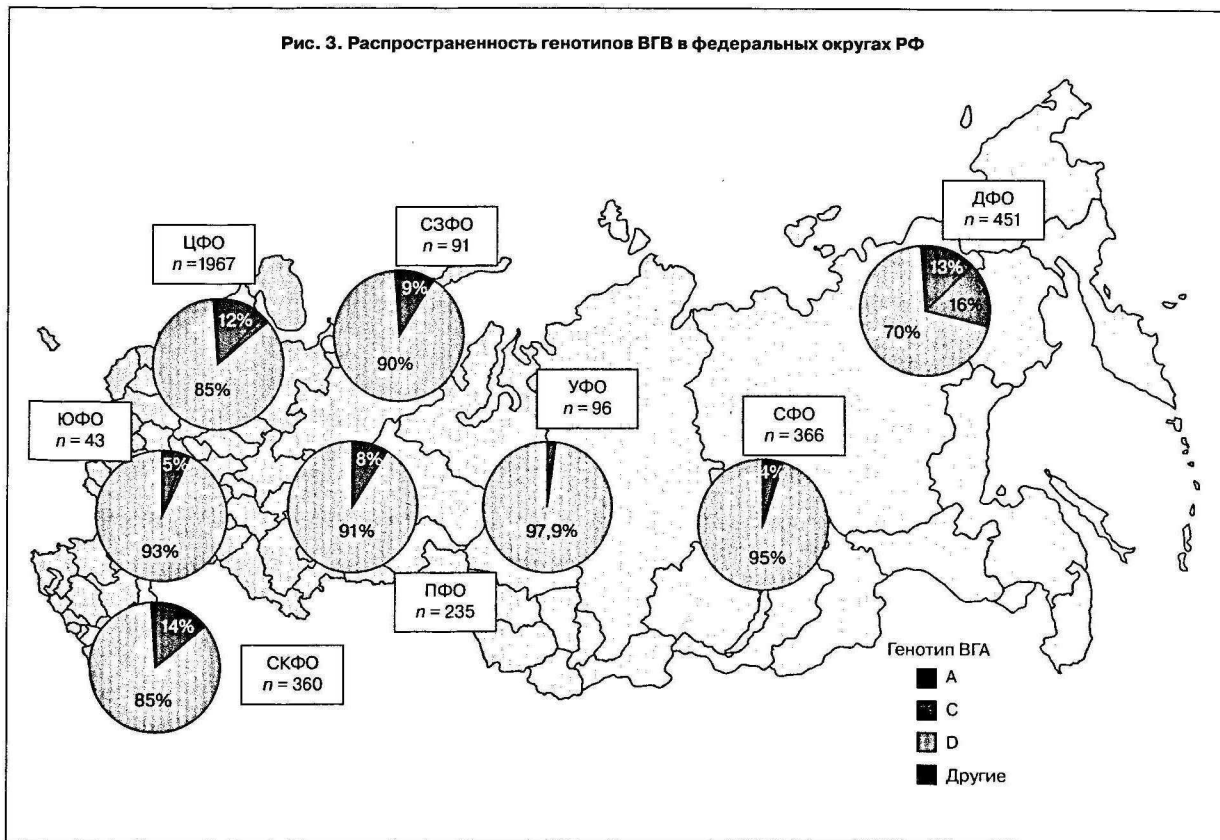
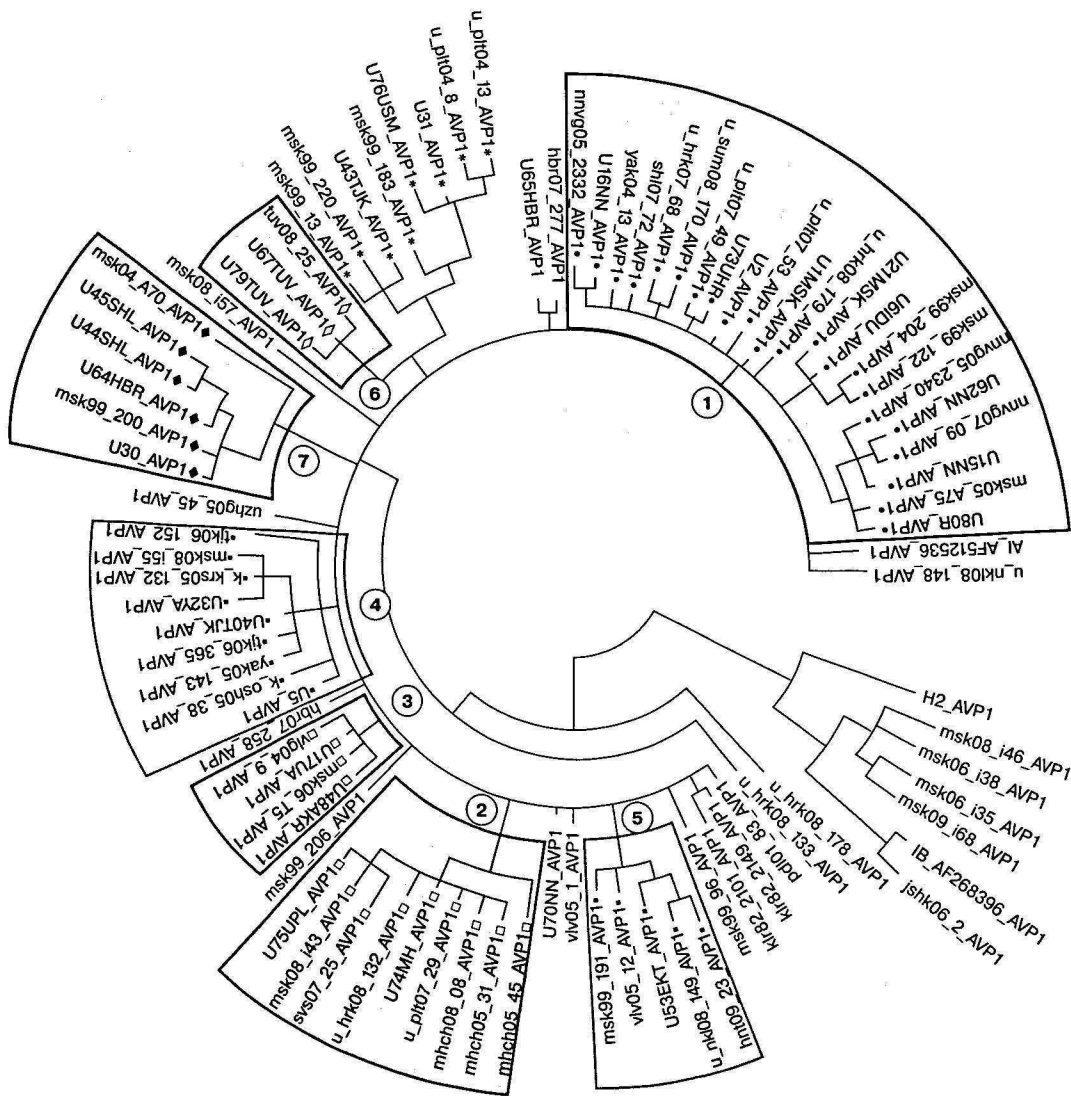


Рис. 2. Географическая кластеризация штаммов ВГА субтипа 1А, выявленных на территории РФ и стран СНГ (область генома VP1/2А, длина – 411 нуклеотидов, байесовский статистический метод, модель GTR+I)

1 – кластер штаммов Европейской части РФ; 2, 3 – южные кластеры; 4, 5 – среднеазиатские кластеры; 6 – тувинский кластер; 7 – дальневосточный кластер.



7. Wattanasri N., Ruchusatsawat K., Wattanasri S. Phylogenetic analysis of hepatitis A virus in Thailand. *J. Med. Virol.* 2005; 75(1): 1–7.
8. Gharbi-Khelifi H., Ferre V., Sdiri K., Berthome M., Fki L., Harrath R. et al. Hepatitis A in Tunisia: phylogenetic analysis of hepatitis A virus from 2001 to 2004. *J. Virol. Meth.* 2006; 138(1–2): 109–116.
9. Costa-Mattioli M., Ferre V., Monpoeho S., Garcia L., Colina R., Billaudel S. et al. Genetic variability of hepatitis A virus in South America reveals heterogeneity and co-circulation during epidemic outbreaks. *J. Gen. Virol.* 2001; 82(Pt 11): 2647–2652.
10. Munné M.S., Vladimirovsky S., Otegui L., Soto S., Brajterman L., Castro R. et al. Molecular characterization of hepatitis A virus isolates from Argentina. *J. Med. Virol.* 2007; 79(7): 887–894.
11. De Paula V.S., Niel C., Teves S.C., Villar L.M., Virgolino H., Gaspar A.M. Molecular epidemiology of hepatitis A virus in Brazilian Amazon. *J. Gastroenterol. Hepatol.* 2006; 21(9): 1435–1438.
12. Costa-Mattioli M., Domingo E., Cristina J. Analysis of sequential hepatitis A virus strains reveals coexistence of distinct viral subpopulations. *J. Gen. Virol.* 2006; 87(Pt 1): 115–118.
13. Toyoda H., Kumada T., Kiriya S., Sone Y., Tanikawa M., Hisanaga Y. et al. Clinical and molecular characteristics of hepatitis A virus infections during the years 1992–2003 in Ogaki, a centrally located city of Japan. *J. Clin. Virol.* 2009; 44(2): 145–148.
14. Wheeler C., Vogt T.M., Armstrong G.L., Vaughan G., Weltman A., Nainan O.V. et al. An outbreak of hepatitis A associated with green onions. *N. Engl. J. Med.* 2005; 353(9): 890–897.
15. Чуланов В.П. Эпидемиологическое и клиническое значение генетической гетерогенности вирусов гепатита А и В. Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. М., 2013.
16. Moratorio G., Costa-Mattioli M., Piovani R., Romero H., Musto H., Cristina J. Bayesian coalescent inference of hepatitis A virus populations: evolutionary rates and patterns. *J. Gen. Virol.* 2007; 88(Pt 11): 3039–3042.
17. Hanada K., Suzuki Y., Gojobori T. A large variation in the rates of synonymous substitution for RNA viruses and its relationship to a diversity of viral infection and transmission modes. *Mol. Biol. Evol.* 2004; 21(6): 1074–1080.
18. Hutin Y.J., Pool V., Cramer E.H., Nainan O.V., Weth J., Williams I.T. et al. A multistate, foodborne outbreak of hepatitis A. National Hepatitis A Investigation Team. *N. Engl. J. Med.* 1999; 340(8): 595–602.
19. Robesyn E., De Schrijver K., Wollants E., Top G., Verbeeck J., Van Ranst M. An outbreak of hepatitis A associated with the consumption of raw beef. *J. Clin. Virol.* 2009; 44(3): 207–210.
20. Tallon L.A., Love D.C., Moore Z.S., Sobsey M.D. Recovery and sequence analysis of hepatitis A virus from springwater implicated in an outbreak of acute viral hepatitis. *Appl. Environ. Microbiol.* 2008; 74(19): 6158–6160.
21. Yoon Y.K., Chun B.C., Lee H.K., Seo Y.S., Shin J.H., Hong Y.S. et al. Epidemiological and genetic analysis of a sustained community-wide outbreak of hepatitis A in the Republic of Korea, 2008: a hospital-based case-control study. *J. Clin. Virol.* 2009; 46(2): 184–188.
22. Robertson B.H., Averbhoff F., Cromeans T.L., Han Xh., Khoprasert B., Nainan O.V. et al. Genetic relatedness of hepatitis A virus isolates during a community-wide outbreak. *J. Med. Virol.* 2000; 62(2):144–150.
23. Ngui S.L., Granerod J., Jewes L.A., Crowcroft N.S., Teo C.G. Outbreaks of hepatitis A in England and Wales associated with two co-circulating hepatitis A virus strains. *J. Med. Virol.* 2008; 80(7): 1181–1188.
24. Sanchez G., Pinto R., Vanaclocha H., Bosch A. Molecular characterization of hepatitis A virus isolates from a transcontinental shellfish-borne outbreak. *J. Clin. Microbiol.* 2002; 40(11): 4148–4155.
25. Карандашова И.В., Пименов Н.Н., Неверов А.Д., Михайловская Г.В., Долгин В.А., Браславская С.И. и др. Молекулярно-эпидемиологические особенности вспышки гепатита А в Москве. *Эпидемиол. и инфекц. бол.* 2012; (3): 9–14.
26. Courouce A.M., Drouet J., Muller J.Y. Australia antigen subtypes identification. *Results. Bibl. Haematol.* 1976; (42): 89–127.
27. Moriya T., Kuramoto I.K., Yoshizawa H., Holland P.V. Distribution of hepatitis B virus genotypes among American blood donors determined with a PreS2 epitope enzyme-linked immunosorbent assay kit. *J. Clin. Microbiol.* 2002; 40(3): 877–880.
28. Okamoto H., Tsuda F., Sakugawa H., Sastrosoewignjo R.I., Imai M., Miyakawa Y. et al. Typing hepatitis B virus by homology in nucleotide sequence: comparison of surface antigen subtypes. *J. Gen. Virol.* 1988; 69(Pt 10): 2575–2583.
29. Norder H., Hammas B., Löfdahl S., Couroucé A.M., Magnusius L.O. Comparison of the amino acid sequences of nine different serotypes of hepatitis B surface antigen and genomic classification of the corresponding hepatitis B virus strains. *J. Gen. Virol.* 1992; 73(Pt 5): 1201–1208.
30. Kidd-Ljunggren K., Miyakawa Y., Kidd A.H. Genetic variability in hepatitis B viruses. *J. Gen. Virol.* 2002; 83(Pt 6): 1267–1280.
31. Tatematsu K., Tanaka Y., Kurbanov F., Sugauchi F., Mano S., Maeshiro T. et al. 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; 83(20): 10538–10547.
32. Huy T.T., Ngoc T.T., Abe K. New complex recombinant genotype of hepatitis B virus identified in Vietnam. *J. Virol.* 2008; 82(11): 5657–5663.
33. Norder H., Couroucé A.M., Coursaget P., Echevarria J.M., Lee S.D., Mushahwar I.K. et al. Genetic diversity of hepatitis B virus strains derived worldwide: genotypes, subgenotypes, and HBsAg subtypes. *Intervirology* 2004; 47(6): 289–309.
34. Devesa M., Loureiro C.L., Rivas Y., Monsalve F., Cardona N., Duarte M.C. et al. Subgenotype diversity of hepatitis B virus American genotype F in Amerindians from Venezuela and the general population of Colombia. *J. Med. Virol.* 2008; 80(1): 20–26.
35. Arankalle V.A., Murhekar K.M., Gandhe S.S., Murhekar M.V., Ramdasi A.Y., Padbidri V.S. et al. Hepatitis B virus: predominance of genotype D in primitive tribes of the Andaman and Nicobar islands, India (1989–1999). *J. Gen. Virol.* 2003; 84(Pt 7): 1915–1920.
36. Stuyver L., De Gendt S., Van Geyt C., Zoulim F., Fried M., Schinazi R.F. et al. A new genotype of hepatitis B virus: complete genome and phylogenetic relatedness. *J. Gen. Virol.* 2000; 81(Pt 1): 67–74.
37. Suzuki S., Sugauchi F., Orito E., Kato H., Usuda S., Siransy L. et al. Distribution of hepatitis B virus (HBV) genotypes among HBV carriers in the Cote d'Ivoire: complete genome sequence and phylogenetic relatedness of HBV genotype E. *J. Med. Virol.* 2003; 69(4): 459–465.



38. Pineiro Y., Mbayed V., Campos R. Evolutionary history of Hepatitis B virus genotype F: an in-depth analysis of Argentine isolates. *Virus genes* 2003; 27(1): 103–110.
39. Vieth S., Manegold C., Drosten C., Nippraschk T., Günther S. Sequence and phylogenetic analysis of hepatitis B virus genotype G isolated in Germany. *Virus genes* 2002; 24(2): 153–156.
40. Arauz-Ruiz P., Norder H., Robertson B., Magnus L. Genotype H: a new Amerindian genotype of hepatitis B virus revealed in Central America. *J. Gen. Virol.* 2002; 83(Pt 8): 2059–2073.
41. Olinger C.M., Jutavijittum P., Hübschen J.M., Yousukh A., Samounry B., Thammavong T. et al. Possible new hepatitis B virus genotype, southeast Asia. *Emerg. Inf. Dis.* 2008; 14(11): 1777–1780.
42. Chu C.J., Keeffe E.B., Han S.H., Perrillo R.P., Min A.D., Soldevila-Pico C. et al. Hepatitis B virus genotypes in the United States: results of a nationwide study. *Gastroenterol.* 2003; 125(2): 444–451.
43. Chulanov V., Neverov A., Karandashova I., Dolgin V., Mikhailovskaya G., Lebedeva E. et al. Molecular epidemiology of HBV in Russia. *Abstracts Book of 14th International Symposium on Viral Hepatitis and Liver Disease.* Shanghai, 2012; 222.
44. Pontisso P., Petit M.A., Bankowski M.J., Peeples M.E. Human liver plasma membranes contain receptors for the hepatitis B virus pre-S1 region and, via polymerized human serum albumin, for the pre-S2 region. *J. Virol.* 1989; 63(5): 1981–1988.
45. Shokrgozar M.A., Shokri F. Subtype specificity of anti-HBs antibodies produced by human B-cell lines isolated from normal individuals vaccinated with recombinant hepatitis B vaccine. *Vaccine* 2002; 20(17–18): 2215–2220.
46. Guirgis B.S., Abbas R.O., Azzazy H.M. Hepatitis B virus genotyping: current methods and clinical implications. *Int. J. Inf. Dis.* 2010; 14(11): e941–e953.
47. Cowie B. Is there an optimal genetic target for molecular analysis of hepatitis B virus transmission? *J. Clin. Microbiol.* 2006; 44(8): 3051.
48. Bracho M.A., Gosalbes M.J., González F., Moya A., González-Candelas F. Molecular epidemiology and evolution in an outbreak of fulminant hepatitis B virus. *J. Clin. Microbiol.* 2006; 44(4): 1288–1294.
49. Datta S., Banerjee A., Chandra P.K., Chowdhury A., Chakravarty R. Genotype, phylogenetic analysis, and transmission pattern of occult hepatitis B virus (HBV) infection in families of asymptomatic HBsAg carriers. *J. Med. Virol.* 2006; 78(1): 53–59.
50. Desmond C.P., Gaudieri S., James I.R., Pfafferoth K., Chopra A., Lau G.K. Viral adaptation to host immune responses occurs in chronic hepatitis B virus (HBV) infection, and adaptation is greatest in HBV e antigen-negative disease. *J. Virol.* 2012; 86(2): 1181–1192.
51. Maini M.K., Boni C., Lee C.K., Larrubia J.R., Reignat S., Ogg G.S. The role of virus-specific CD8(+) cells in liver damage and viral control during persistent hepatitis B virus infection. *J. Exp. Med.* 2000; 191(8): 1269–1280.
52. Zoulim F. Mechanism of viral persistence and resistance to nucleoside and nucleotide analogs in chronic hepatitis B virus infection. *Antiviral. Research.* 2004; 64(1): 1–15.

Поступила 12.02.14

### Для корреспонденции:

**Чуланов Владимир Петрович** – канд. мед. наук, зав. лаб. вирусных гепатитов отд. молекулярной диагностики и эпидемиологии Центрального НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора  
 Адрес: 111123, Москва, ул. Новогиреевская, д. 3а  
 Телефон: +7(495) 974-96-46, доб. 1152  
 E-mail: vladimir.chulanov@pcr.ru  
**For correspondence:** Vladimir P. Chulanov, vladimir.chulanov@pcr.ru

### Сведения об авторах:

**Неверов Алексей Дмитриевич** – канд. биол. наук, ст. науч. сотр. лаб. вирусных гепатитов отд. молекулярной диагностики и эпидемиологии Центрального НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора; neva\_2000@mail.ru

**Карандашова Инга Вадимовна** – канд. биол. наук, ст. науч. сотр. лаб. вирусных гепатитов отд. молекулярной диагностики и эпидемиологии Центрального НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора; inga.karandashova@pcr.ru

**Пименов Николай Николаевич** – аспирант Центрального НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора; n.pimenov@mail.ru

**Шипулин Герман Александрович** – канд. мед. наук, зав. отд. молекулярной диагностики и эпидемиологии Центрального НИИ эпидемиологии; shipulin@cmd.su