

## ГЕНЕТИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ ВИРУСА ГЕПАТИТА В НА ТЕРРИТОРИИ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Неверов А.Д., Карандашова И.В., Долгин В.А., Михайловская Г.В., Пименов Н.Н., Браславская С.И., Чуланов В.П.

*ФГУН «Центральный НИИ эпидемиологии» Роспотребнадзора, Москва*

**Введение:** Вирусный гепатит В (ВГВ) представляет собой серьезную проблему здравоохранения ввиду его повсеместного распространения. В настоящее время по данным ВОЗ в мире насчитывается около 500 миллионов человек, инфицированных вирусом гепатита В (HBV). Распространенность HBV-инфекции в различных регионах колеблется в широких пределах. На основании филогенетического анализа нуклеотидных последовательностей полного генома вирус гепатита В подразделяют на 8 генотипов, обозначаемых латинскими буквами от А до Н. Для каждого генотипа характерна определенная географическая и этническая зона распространения. На территории стран Европы и США преобладают генотипы D и А. Генотип D доминирует в странах Средиземноморья, в России и в Индии. Генотипы С и D характерны для Китая и стран Юго-Восточной Азии, генотип Е – для Западной Африки, F – для индейцев Южной Америки и эскимосов Аляски, Н – для жителей Центральной Америки. Распространенность генотипа G вируса изучена недостаточно. Генотипы А, F, С, В и D принято подразделять на ряд субтипов – А1, А2; F1, F2; С1-С4, В1-В4 и D1-D4, соответственно. Для субтипов генотипов С и В характерна определенная географическая кластеризация. С1 характерен для Японии, Кореи и Китая; С2 – для Китая и Бангладеш; С3 встречается в странах Океании и С4 – у австралийских аборигенов. В1 доминирует в Японии, В2 – в Китае и Вьетнаме, В3 встречается в Индонезии и В4 – во Вьетнаме. Для субтипов генотипов А и D нет четкой географической кластеризации вследствие их широкой распространенности в странах Европы, Азии и Африки. Только субтип D4 является доминирующим субтипом на островах Океании. Изучение генетического разнообразия вируса гепатита В позволит осуществлять надзор за генотипами, циркулирующими на территории страны, что в свою очередь будет способствовать 1) анализу эпидемиологической связи случаев ВГВ; 2) прогнозированию изменений эпидемиологической ситуации; 3) идентификации завозных случаев инфекции; 4) выявлению эндемичных для определенных территорий генотипов HBV и 5) планированию региональной стратегии предотвращения дальнейшего распространения ВГВ. **Цель работы:** Изучение генетического разнообразия вируса гепатита В, циркулирующего на территории РФ.

**Материалы и методы:** Нами было исследовано 2036 образцов *HBV*, выделенных из плазмы (сыворотки) крови пациентов с диагнозом хронический вирусный гепатит В, которые проходили обследование в учреждениях здравоохранения восьми Федеральных округов (ФО) РФ в 2001-2010 гг. Из Дальневосточного ФО было исследовано 459 образцов (22,5%), которые поступили из гг. Владивосток (14 образцов, 3,0%), Хабаровск (60 образцов, 13,1%), Якутск (92, 20,0%) и ряда населенных пунктов Чукотского АО (289, 63,0%) и Сахалинской области (4, 0,8%). Из Сибирского ФО было исследовано 235 образцов (11,5%), которые поступили из гг. Омск (75, 31,9%), Иркутск (115, 48,9%) и ряда населенных пунктов Республики Тыва (45, 19,2%). Из Уральского ФО было исследовано 11 образцов (0,5%), которые поступили из гг. Ноябрьск (Ямало-Ненецкий АО) (4, 36,4%), Радужный (Ханты-Мансийский АО) (3, 27,2%) и Екатеринбург (4, 36,4%). Из Приволжского ФО было исследовано 223 образца 11,0%), которые поступили из гг. Казань (222, 99,6%) и Йошкар-Ола (1, 0,4%). Из Северокавказского ФО было исследовано 391 образец (19,2%), которые поступили из гг. Махачкала (37, 9,5%), Ставрополь (277, 70,8%) и ряда населенных пунктов Республики Кабардино-Балкария (77, 19,7%). Из Южного ФО было исследовано 37 образцов (1,8%), которые поступили из гг. Астрахань (6, 16,2%), Волгоград (1, 2,7%) и ряда населенных пунктов Ростовской области (30, 81,1%). Из Северо-западного ФО было исследовано 15 образцов (0,8%), которые поступили из г. Архангельск (13, 86,7%) и ряда населенных пунктов Новгородской области (2, 13,3%). Из Приволжского ФО было исследовано 223 образца 11,0%), которые поступили из гг. Казань (222, 99,6%) и Йошкар-Ола (1, 0,4%). Из Центрального ФО было исследовано 665 образцов (32,7%), которые поступили из гг. Брянск (21, 3,2%), Липецк (2, 0,3%), Москва (609, 91,5%), Рязань (2, 0,3%) и Смоленск (31, 4,7%).

Выделение ДНК из плазмы (сыворотки) крови проводили с использованием комплекта реагентов «РИБО-преп» («ФГУН ЦНИИЭ», Россия). Выявление ДНК *HBV* проводили с использованием комплекта реагентов «АмплиСенс® *HBV-FRT*» («ФГУН ЦНИИЭ»). Генотипирование *HBV* проводили 1) методом рестрикционного анализа (RFLP) амплифицированного фрагмента *S*-гена длиной 470 п.н. с использованием эндонуклеаз *Bst4CI* и *Sse9I* и 2) методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с гибридационно-флуоресцентной детекцией в режиме «реального времени». Генотип нетипируемых изолятов определяли с помощью секвенирования. 206 изолятов *HBV* было охарактеризовано методом прямого секвенирования фрагмента *S*-гена длиной 950 п.н. Филогенетический анализ проводили с использованием алгоритмов максимального правдоподобия и Neighbour-

joining (NJ, модель K80) с помощью программ Phylip 3.65 и MEGA3. Оценку достоверности кластеризации для NJ алгоритма проводили с помощью bootstrap-анализа (1000 повторов).

**Результаты:** В результате проведенной работы по изучению генетического разнообразия вируса гепатита В на территории Российской Федерации была выявлена циркуляция трех генотипов вируса гепатита В – D, А и С, причем генотип С выявлялся в единичных случаях в гг. Москва (14 образцов, 2,3%), Якутск (3 образца, 3,3%), Иркутск (2 образца, 1,7%), Хабаровск (1 образец, 1,7%) и Ростов (1 образец, 3,3%) и массово среди коренных жителей Чукотского АО (73 образца, 25,3%). Генотипы В (3 образца), Е (2 образца) и F (1 образец), выявленные только на территории Москвы у жителей РФ и иностранных граждан, можно рассматривать как завозные случаи инфекции.

По результатам генотипирования 84,4% исследованных изолятов *HBV* относятся к генотипу D *HBV*, 10,4% – к генотипу А, 4,6% – к генотипу С, 0,45% были представлены случаями смешанной инфекции А и D генотипами *HBV* и 0,15% представляли собой рекомбинанты между генотипами С и D. Генотип D *HBV* был доминирующим во всех Федеральных округах, вовлеченных в исследование. К этому генотипу относились 100% изолятов из Уральского и Северо-западного ФО, 94,6% изолятов из Южного ФО, 93,6% изолятов из Сибирского ФО, 91,0% изолятов из Приволжского ФО, 85,9% изолятов из Северокавказского ФО, 85,4% изолятов из Центрального ФО и 70,8% изолятов из Дальневосточного ФО. Генотип D *HBV* был доминирующим во всех населенных пунктах, вовлеченных в исследование. В гг. Владивосток, Ноябрьск (Ямало-Ненецкий АО), Радужный (Ханты-Мансийский АО), Екатеринбург, Астрахань, Волгоград, Йошкар-Ола, Махачкала, Липецк, Рязань, Брянск, Архангельск, Республике Тыва, Сахалинской и Новгородской областях 100% изолятов относились к генотипу D *HBV*.

Вторым по распространенности в Сибирском, Приволжском, Северокавказском и Центральном Федеральных округах был генотип А *HBV*, к которому относились 5,5%, 8,1%, 12,8% и 11,3% проанализированных изолятов *HBV*, соответственно. В образцах, полученных из Уральского и Северо-западного ФО, не было выявлено изолятов, относящихся к генотипу А, что может быть объяснено недостаточным количеством проанализированных изолятов от этих округов. В образцах, полученных из Дальневосточного ФО, вторым по распространенности был генотип С, к нему относились 16,8% изолятов. К генотипу А относилось 11,2% проанализированных образцов, поступивших из этого округа. В Южном ФО генотипы А и С встречались равновероятно – в 2,7% случаев каждый. Генотип А был широко

представлен в образцах, полученных из г. Якутск и Республики Кабардино-Балкария, где его частота встречаемости составила 47,8% и 39%, соответственно. В других исследуемых регионах, в которых был выявлен генотип А, его доля составила 6,6% (г. Хабаровск), 2,1% (Чукотский АО), 4% (г. Омск), 8,7% (г. Иркутск), 8,1% (г. Казань), 7,2% (г. Ставрополь), 12,2% г. Москва и 3,2% (г. Смоленск).

Случаи коинфекции А и D генотипами HBV были выявлены в гг. Казани, Ставрополе, Москве и Республике Кабардино-Балкария, где частота их встречаемости составила – 0,9%, 1,1%, 0,3% и 2,6%, соответственно.

Рекомбинанты между D и C генотипами HBV обнаружены только у коренного населения Чукотки (3 образца, 1%).

В результате проведенной работы были определены субтипы HBV, циркулирующие на территории РФ, и частоты их выявления в различных регионах РФ (Европейская часть РФ, Сибирь и Дальний Восток). Генотипы А и С были представлены субтипами А2 и С1, соответственно. Генотип D был представлен субтипами D1, D2 и D3, которые встречались практически во всех исследованных регионах, однако их популяционные частоты в этих регионах отличались друг от друга (см. Таблицу 1).

**Таблица 1.** Частоты различных субтипов HBV в исследуемых регионах РФ

№	Регион	Район	Кол-во изоля- тов	Генотипы HBV				
				D			A	C
				D1	D2	D3	A2	C1
1	Европейская часть РФ	Архангельск	2	1 (50%)	1 (50%)	—	—	—
		Брянск	4	1 (25%)	2 (50%)	1 (25%)	—	—
		Кабардино-Балкария	1	1 (100%)	—	—	—	—
		Казань	7	1 (33,3%)	2 (66,7%)	—	4 (100%)	—
		Москва	12	4 (66,7%)	—	2 (33,3%)	3 (100%)	3 (100%)
		Смоленск	5	1 (25%)	3 (75%)	—	1 (100%)	—
		<b>Всего</b>	<b>31</b>	<b>9 (45%)</b>	<b>8 (40%)</b>	<b>3 (15%)</b>	<b>8 (100%)</b>	<b>3 (100%)</b>
2	Сибирь	Иркутск	10	1 (16,7%)	2 (33,3%)	3 (50%)	3 (100%)	1 (100%)
		Ноябрьск	2	1 (50%)	—	1 (50%)	—	—
		Тыва	3	3 (100%)	—	—	—	—
		<b>Всего</b>	<b>15</b>	<b>5 (45,4%)</b>	<b>2 (18,2%)</b>	<b>4 (36,4%)</b>	<b>3 (100%)</b>	<b>1 (100%)</b>

Продолжение табл. 1

№	Регион	Район	Кол-во изоля- тов	Генотипы HBV				
				D			A	C
				D1	D2	D3	A2	C1
3	Дальний Восток	Чукотка	115	8 (9,9%)	16 (19,8%)	57 (70,3%)	3 (100%)	31 (100%)
		Якутия	24	3 (17,6%)	6 (35,3%)	8 (47,1%)	6 (100%)	1 (100%)
		Владивосток	13	2 (15,4%)	8 (61,5%)	3 (23,1%)	—	—
		<b>Всего</b>	<b>152</b>	<b>13 (11,7%)</b>	<b>30 (27%)</b>	<b>68 (61,3%)</b>	<b>9 (100%)</b>	<b>32 (100%)</b>
<b>ВСЕГО</b>			<b>198</b>	<b>27 (19%)</b>	<b>40 (28,2%)</b>	<b>75 (52,8%)</b>	<b>20 (100%)</b>	<b>36 (100%)</b>

В Европейской части РФ преобладали субтипы D1 и D2 (45% и 40%, соответственно). В азиатской части страны доля субтипа D3 возрастала и составляла в Сибири и на Дальнем Востоке 36,4% и 61,3%, соответственно, причем, встречаемость субтипа D1 в Дальневосточном регионе была низкой – 11,7%.

При проведении филогенетического анализа секвенированных по S-гену последовательностей не было выявлено зависимости между генетическими расстояниями и циркуляцией определенных изолятов HBV на конкретной территории.

**Закключение:** Результаты исследования показали, что вирус гепатита В на территории РФ представлен тремя генотипами – D, A и C, причем последний встречается в единичных случаях и массово среди коренного населения Чукотского АО. Распределение генотипов HBV в изученных Федеральных округах отличается друг от друга. Во всех ФО с разными популяционными частотами доминирует D генотип HBV. Практически во всех Федеральных округах вторым по распространенности является генотип A, достигая максимума в Республике Якутия. Определены популяционные частоты распространения различных субтипов HBV. Показано, что доля субтипа D3 увеличивается, а доли субтипов D1 и D2 уменьшаются в направлении с запада на восток страны.