

ЭТИОЛОГИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА ВИРУСНЫХ ГЕПАТИТОВ В РЕСПУБЛИКЕ ТАДЖИКИСТАН ПО РЕЗУЛЬТАТАМ МОЛЕКУЛЯРНО-БИОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Карандашова И.В.¹, Неверов А.Д.¹, Камолов Б.Д.², Лебедева Е.Б.¹, Орлов С.Г.¹, Браславская С.И.¹, Мязин А.Е.¹, Малеев В.В.¹, Чуланов В.П.¹

¹ФГУН Центральный НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва, Россия; ²Городская инфекционная больница, Худжанд, Таджикистан

Введение

Проблема вирусных гепатитов является одной из самых актуальных в современной медицине. Целью настоящего исследования было изучение этиологической структуры вирусных гепатитов и распространенности их различных генотипов на территории республики Таджикистан.

Материалы и методы

Нами было исследовано 654 образцов плазмы крови пациентов с клинической картиной острого или хронического вирусных гепатитов, лечившихся в Худжандской городской больнице в 2005 – 2007 годах. Среди них было 396 ребенка (182 мальчика, 214 девочек) и 258 взрослых (140 мужчин, 118 женщин). У 78% больных (511) наблюдалось острое течение заболевания, у 22% (143) - хроническое. У 78% больных острым гепатитом (400) заболевание протекало легко, у 2% (9) - тяжело, у остальных (20% - 102 человека) была среднетяжелая форма болезни. Все образцы были исследованы с помощью ПЦР с последующей электрофоретической детекцией на наличие ДНК HBV, РНК HAV, HCV, HDV, HGV и HEV. Также осуществлялось генотипирование HAV-, HBV-, HDV- и HCV-положительных проб. Генотипирование HAV проводили с помощью субтипспецифичной ПЦР, разработанной для выявления наиболее распространенных субтипов вируса (IA, IB, IIIA и IIIB). 42 изолята HAV дополнительно было охарактеризовано методом прямого секвенирования областей генома VP1/P2B (фрагмент длиной 410 нк.). Филогенетический анализ проводили с помощью алгоритма Neighbour-joining (модель K80) с использованием программы MEGA3. Генотипирование HBV проводили методом рестрикционного анализа (RFLP) амплифицированного фрагмента S-гена длиной 470 п.н. с использованием эндонуклеазы *Bst4Cl*. Изоляты HDV были охарактеризованы с помощью прямого секвенирования фрагмента гена, кодирующего Дельта антиген, длиной 410 нк. 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). Генотипирование HCV проводили с помощью субтипспецифичной ПЦР, разработанной для выявления следующих субтипов вируса - 1a, 1b, 2 и 3a. Шесть произвольно выбранных изоля-

тов HGV были охарактеризованы с помощью прямого секвенирования фрагмента гена E2 длиной 630 нк. 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

Среди 654 обследованных пациентов с клиническими признаками вирусного гепатита у 354 (54%) была выявлена РНК HAV. Среди этих больных преобладали дети (345; 97%). У большинства заболевших (288; 81%) был выявлен субтип IIIA гепатита А, тогда как у остальных выявлялся субтип IA (66; 19%). Был проведен филогенетический анализ порядка 300 последовательностей из GenBank, которые пересекаются с секвенированным нами фрагментом генома HAV, более чем на 300 нк. Было определено, что IIIA субтип HAV подразделяется на 3 подгруппы, две из которых содержат последовательности изолятов, циркулирующих на территории стран Юго-Восточной Азии. Третья подгруппа IIIA субтипа HAV содержит изоляты, доминирующие на территории Индии, и изоляты, выявляемые в России, Европе во время спорадических случаев заболевания. Эти данные согласуются с работой Kazunori E. et al., 2007. Сравнительный филогенетический анализ штаммов гепатита А, циркулирующих на территории Таджикистана показал, что таджикские штаммы IIIA субтипа HAV относятся к третьей (индийской) подгруппе, однако образуют монофилитический кластер со штаммами, выявляемыми на территории Киргизии, и значительно отличаются от штаммов этой подгруппы, выявляемых в России, Европе и Индии. Полученные данные могут свидетельствовать об эндемичности субтипа IIIA на территории Средней Азии. Таджикские штаммы IA субтипа HAV представлены штаммами, кластеризующимися со штаммами этого субтипа, циркулирующими на территории России и стран СНГ, что может являться следствием завозного характера IA субтипа HAV на территории этой среднеазиатской республики.

ДНК HBV была амплифицирована из 65 образцов (10%). Среди этой группы больных преобладали взрослые (57; 88%), имеющие острое (32; 56%) и хроническое (25; 44%) течение заболевания. 12 % заболевших гепатитом В, составляли дети, заболевание у которых протекало в острой форме. У всех пациентов был выявлен только D генотип HBV.

Коинфекция (суперинфекция) HBV+HDV была обнаружена у 35 пациента (5%), среди которых было 30 взрослых (86%), имеющих хроническое (16; 53%) и острое (14; 47%) течение заболевания. Среди последних у одиннадцати пациентов наблюдалось среднетяжелое течение болезни, у двух – тяжелое и у одного - легкое. У двух детей заболевание носило хроническое течение, у трех – острое. ДНК HBV удалось ампли-

фицировать из всех образцов, все они относились к генотипу D. При филогенетическом анализе все 35 изолятов HDV принадлежали генотипу I.

В 65 пробах (10%) была обнаружена РНК HCV, выделенная в основном из плазмы взрослых пациентов (64 образца, 98%). У 43 пациентов (66%), заболевших гепатитом С, заболевание протекало в хронической форме, у 36 (34%) - в острой. У 55% (36) был выявлен генотип 1b, у 34% (22) – 3a, у 11% (7) – генотип 2 вируса гепатита С.

РНК гепатита E не было выявлено ни в одной пробе.

Кроме того, в 10% (66) образцов была обнаружена РНК GBV-C (HGV), причем у 17 пациентов (25,8%) в плазме была обнаружена только РНК HGV. У остальных гепатит G выявлялся вместе с молекулярно-биологическими маркерами других гепатитов, причем коинфекция HGV+HAV была у 21 пациента (31,8%), HGV+HBV – у 7 (10,6%), HGV+HBV+HDV – у 7 (10,6%), HGV+HCV – у 13 (19,7%) и HGV+HBV+HCV – у 1 (1,5%). При филогенетическом анализе все отсеквенированные изоляты HGV принадлежали генотипу 2, распространенному в Европе и США.

У 18% пациентов (118) с клиническими признаками вирусного гепатита не было выявлено молекулярно-биологических маркеров вирусных гепатитов. Среди этих больных было 73 (62%) взрослых (33 (45%) - хронический гепатит и 37 (51%) – острый гепатит) и 45 (38%) детей (42 (93%) – острый гепатит, 3 (7%) – хронический гепатит).

Выводы

В этиологической структуре вирусных гепатитов в республике Таджикистан в отличие от России преобладает гепатит с фекально-оральным механизмом передачи (гепатит А, 68%) по сравнению с парентеральными гепатитами (гепатитами В и С, 19% и 13%, соответственно). Для РФ соотношение этиологических агентов вирусных гепатитов составило А – 8%, В – 32% и С - 60% (По данным ФЦ Роспотребнадзора, 2006 г.). Энтеральными гепатитами болеют в основном дети (в России – 84% и Таджикистане - 97%), тогда как среди взрослых преобладают гепатиты с парентеральным механизмом передачи. В отличие от РФ, среди парентеральных гепатитов в республике преобладает гепатит В (60%), по сравнению с гепатитом С (40%). Для РФ соотношение гепатитов В и С составляет 35% и 65%, соответственно (По данным ФЦ Роспотребнадзора, 2006 г.). При исследовании распространенности генотипов вирусов гепатита в этой республике было показано, что для вируса гепатита А характерно значительное преобладание субтипа IIIA, тогда как в России преобладающим является субтип IA. Распределение генотипов вирусов гепатита В, С и D практически не отличается от их распределения, наблюдаемого в России.