

МОЛЕКУЛЯРНО-ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ИЗОЛЯТОВ ВИРУСА ГЕПАТИТА С ИЗ РАЗНЫХ РЕГИОНОВ РЕСПУБЛИКИ САХА (ЯКУТИЯ)

А.В. Семенов^{1,2,3}, Ю.В. Останкова¹, В.В. Герасимова⁴, М.А. Бичурина¹,
А.В. Козлов³, С.Л. Мукомолов¹, Арег А. Тотолян^{1,2}

¹ ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия

² ГБОУ ВПО Первый Санкт-Петербургский Государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова МЗ РФ, Санкт-Петербург, Россия

³ ГБОУ ВПО Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова МЗ РФ, Санкт-Петербург, Россия

⁴ ФГАОУ ВПО Северо-Восточный федеральный университет им. М.К. Аммосова, Санкт-Петербург, Россия

Резюме. Количество инфицированных вирусом гепатита С в мире составляет почти 3% от населения земного шара, при этом хронический гепатит С развивается приблизительно у 70–80% инфицированных. Хронический гепатит С является ведущей причиной цирроза печени и гепатоцеллюлярной карциномы, таким образом становясь одной из глобальных проблем общественного здравоохранения. Клинические проявления разнообразны, и зависят в основном от биологических свойств вируса и его взаимодействия с иммунной системой хозяина. Генотип вируса гепатита С является важным фактором, определяющим как вирусный ответ на противовирусную терапию, так и риск развития тяжелого заболевания печени. Определение генотипов и субтипов вируса важно для лучшего понимания эпидемиологических и вирусологических особенностей заболевания. Распространенность генотипов вируса гепатита С варьируется в разных географических регионах. Данные о распределении генотипов ВГС для некоторых субъектов Российской Федерации весьма ограничены, особенно это касается сельских регионов, Северной Сибири, Дальнего Востока, полярных регионов. Молекулярные характеристики циркулирующих на данных территориях вирусов практически не представлены в литературе. Одним из таких регионов является Якутия. В настоящем исследовании методом прямого секвенирования NS5B области РНК ВГС определены генетические варианты ВГС у жителей Якутии, страдающих ХВГС с умеренной и высокой вирусной нагрузкой. На основании филогенетического анализа показано, что среди обследованных больных ХВГС при умеренной и высокой вирусной нагрузке ВГС преобладает генотип 1 (88,3%) по сравнению с генотипом 2 (6,7%) и 3 (3,2%). Полученные результаты о распространенности субтипа 1b согласуются с данными о связи этого субтипа с высоким уровнем виремии, большей длительностью и тяжестью течения заболевания печени, а также преимущественным развитием ХВГС у пациентов с субтипом 1b, по сравнению с лицами, инфицированными иными субтипами вируса гепатита С. Для некоторых изолятов вируса гепатита С из Якутии показано сходство нуклеотидной послед-

Адрес для переписки:

Останкова Юлия Владимировна
197101, Россия, Санкт-Петербург, ул. Мира, 14,
ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера.
Тел.: 8 (812) 233-20-92 (служебн).
E-mail: shenna1@yandex.ru

Contacts:

Julia V. Ostankova
194223, Russian Federation, St. Petersburg, Mira str., 14,
St. Petersburg Pasteur Institute.
Phone: +7 (812) 233-20-92 (office).
E-mail: shenna1@yandex.ru

Библиографическое описание:

Семенов А.В., Останкова Ю.В., Герасимова В.В., Бичурина М.А.,
Козлов А.В., Мукомолов С.Л., Тотолян А.А. Молекулярно-
эпидемиологические особенности изолятов вируса гепатита С
из разных регионов Республики Саха (Якутия) //
Инфекция и иммунитет. 2015. Т. 5, № 4. С. 359–372.
doi: 10.15789/2220-7619-2015-4-359-372

Citation:

Semenov A.V., Ostankova Ju.V., Gerasimova V.V., Bichurina M.A.,
Kozlov A.V., Mukomolov S.L., Totolian A.A. Molecular epidemiological
features of hepatitis C virus isolates from different regions
of the Republic of Sakha (Yakutia) // Russian Journal of Infection
and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2015, vol. 5, no. 4,
pp. 359–372. doi: 10.15789/2220-7619-2015-4-359-372

довательности региона NS5B с соответствующими фрагментами изолятов из США, Бразилии и Ирландии. Обсуждается тесная связь выявленных в нашей работе изолятов вирусного гепатита С субтипа 2a с изолятами, найденными в Китае. Впервые на территории РФ выявлен вирусный гепатит С субтипа 3g, предположительно завезенный из стран Южной Азии. Комплексное использование молекулярных, вирусологических, демографических и эпидемиологических методов и информации для наблюдения за инфекциями будет способствовать пониманию текущей эпидемиологической ситуации по вирусному гепатиту С в России. Масштабное исследование генотипов ВГС в Российской Федерации позволит оценить пути распространения и время эволюционного разделения изолятов вируса.

Ключевые слова: гепатит С, генотипирование, секвенирование, генотип, субтип, молекулярная эпидемиология, филогения, Республика Саха (Якутия).

MOLECULAR EPIDEMIOLOGY FEATURES OF HEPATITIS C VIRUS ISOLATES FROM DIFFERENT REGIONS OF THE REPUBLIC SAKHA (YAKUTIA)

Semenov A.V.^{a,b,c}, Ostankova Ju.V.^a, Gerasimova V.V.^d, Bichurina M.A.^a, Kozlov A.V.^c, Mukomolov S.L.^a, Totolian Areg A.^{a,b}

^a St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russia

^b Pavlov First St. Petersburg State Medical University, St. Petersburg, Russia

^c North-West State Medical University n.a. I.I. Mechnikov, St. Petersburg, Russia

^d North-East Federal University n.a. M.K. Ammosov, Yakutsk, Russia

Abstract. According to WHO data about 3% of population are infected by hepatitis C virus (HCV) worldwide. Chronic hepatitis C is the leading cause of cirrhosis and hepatocellular carcinoma, thus it becoming one of the global public health problems. Clinical manifestations are varied and depend mainly of the virus biological properties and its interaction with the host immune system. Determination of virus genotype and subtype is important for a better understanding of the epidemiological and virological features of the disease. The prevalence genotypes hepatitis C virus is varies in different geographical regions of the world. The data about HCV genotypes distribution in some Russian Federation regions are very limited, especially about HCV genotypes prevalence in Siberia, Far East and some rural regions. One of such regions is Yakutia. In our study we identified genetic variants of HCV in chronic hepatitis C patients with moderate and high viral load from Yakutia by direct sequencing of HCV RNA NS5B region. Based on phylogenetic analysis we found the prevalent genotype 1 (88.3%), than genotype 2 (6.7%) and 3 (3.2%) among HCV patients with moderate and high viral load. Our results on the prevalence of subtype 1b are consistent with the data on the connection between this subtype with high levels of viremia, greater duration and severity of liver disease, as well as the development of chronic hepatitis C in patients infected by HCV subtype 1b, compared with those infected with other subtypes of hepatitis virus C. The similarity of some Yakutian isolates with isolates from the United States, Brazil and Ireland was found. We discuss HCV subtype 2a isolates identified origin from isolates found in China. First in the territory of the Russian Federation HCV subtype 3g was identified, presumably imported from South Asia. Interconnected use of molecular, virological, demographic and epidemiological methods and information to monitor the infections will contribute to the understanding of the current HCV epidemiology in Russia.

Key words: hepatitis C, genotyping, sequencing, genotype, subtype, molecular epidemiology, phylogeny, Republic Sakha (Yakutia).

Введение

Количество инфицированных вирусом гепатита С (ВГС) в мире составляет почти 3% от населения земного шара [29]. Различные регионы мира классифицируют как регионы с «высокой» (> 3,5%), «умеренной» (1,5–3,5%) и «низкой» (< 1,5%) распространенностью вируса. Хронический вирусный гепатит С (ХВГС) развивается приблизительно у 70–80% инфицированных. Во всем мире ХВГС является ведущей причиной цирроза печени и гепатоцеллюлярной карциномы с летальным исходом и одной из глобальных проблем общественного здравоохранения. Согласно прогнозу, в ближайшее десятилетие ожидается значительное увеличе-

ние числа лиц с хронической инфекцией и, соответственно, повышение смертности, связанной с различными осложнениями ХВГС, в том числе фиброза/цирроза печени и гепатоцеллюлярной карциномы [14, 36].

Клинические проявления ХВГС разнообразны и зависят в основном от биологических свойств вируса и от его взаимодействия с иммунной системой хозяина [15, 22]. Для ВГС показано существенное разнообразие нуклеотидной последовательности по всему вирусному геному. Одной из самых интересных особенностей ВГС является высокая генетическая неоднородность вирусной популяции. Многие варианты ВГС показывают только 68–79% гомологии. На основании кластеризации

гомологичных последовательностей описаны разные генотипы и подтипы ВГС, встречающиеся в тех или иных географических регионах [48].

На данный момент идентифицированные изоляты ВГС принято подразделять на 7 генотипов [50], отличающихся друг от друга по составу нуклеотидных последовательностей на 31–33%, и, по меньшей мере, на 67 подтвержденных субтипов; 20 субтипов временно отнесенных к одному из генотипов и 21 не отнесенных к какому-либо генотипу, отличающихся друг от друга по составу нуклеотидных последовательностей на 20–25% [27]. Генотип ВГС является важным фактором, определяющим как вирусный ответ на противовирусную терапию, так и риск развития тяжелого заболевания печени. Так, например, ВГС 2 и 3 генотипов более чувствителен к терапии пегилированным интерфероном, тогда как для пациентов, инфицированных ВГС генотипа 1, терапия интерфероном менее предпочтительна. ВГС существует в виде сложной смеси тесно связанных, но генетически различных вариантов. Такая стратегия позволяет вирусу эффективно уклоняться от иммунного ответа хозяина [18]. Другим фактором, значимым для вирусного ответа на терапию и влияющим на длительность лечения, является вирусная нагрузка [19]. Показано, что высокая вирусная нагрузка ассоциирована с низкой частотой устойчивого вирусологического ответа на стандартную терапию ПЭГ-интерфероном и, по сравнению с низким уровнем виремии, допускает более высокую вероятность рецидива [49]. У пациентов, инфицированных генотипом 1, высокая вирусная нагрузка встречается чаще, чем у пациентов с генотипами 2 или 3 [38]. Тем не менее, корреляция между генотипами и вирусной нагрузкой остается спорной [16]. Определение генотипов и субтипов ВГС важно для лучшего понимания эпидемиологических и вирусологических особенностей заболевания, а также предоставляет дополнительную информацию для принятия решения о выборе тактики противовирусной терапии.

Распространенность генотипов ВГС варьирует в разных географических регионах. Генотипы 1, 2 и 3 широко распространены в мире, тогда как другие ограничиваются определенными географическими областями [47]. Например, субтипы 1a, 1b, 2a, 2b, 3a составляют более чем 90% всех инфекций ВГС в России, Европе, Китае, Японии, Австралии [25]. Генотип 4 субтип 4a выявлен преимущественно у больных ХВГС в Египте, Северной Африке и Сахаре, а также на Ближнем Востоке [6]. Однако субтипы 1a, 1b, 2a, 3a также присутствуют в данных

популяциях [20]. Генотипы 5 и 6 обнаружены в Южной Африке и Гонконге, а также в Китае, Юго-Восточной Азии, Таиланде и Вьетнаме. Недавно в Демократической Республике Конго выявлен абсолютно новый генотип 7 [35]. Генотипы подразделяются на множество субтипов, число которых в разных генотипах варьируется. Распространенность разных субтипов в регионах мира постоянно меняется.

Генотип 1 состоит из 7 субтипов (1a–1i). В то время как субтипы 1a и 1b распространены повсеместно, субтипы 1c–1i выявлены преимущественно в Индонезии, Камеруне и т.д., но значительно реже встречаются в Европе [10].

Генотип 2, широко распространенный по всему миру, состоит из 11 субтипов (2a–2г), сравнительно редких для Западной Европы и Северной Америки, но преобладающих в Восточной Азии [56]. Большинство редких субтипов генотипа 2 имеют ограниченный ареал и, как правило, выделены от пациентов африканского или азиатского происхождения [31].

Генотип 3 подразделяют на 6 субтипов (3a–3k). При этом субтипы 3a и 3b распространены по всему миру в основном за счет передачи при внутривенном употреблении наркотиков, а также из-за иммиграции инфицированных людей в Европу и Северную Америку. Специфичные субтипы генотипа 3 были найдены в некоторых регионах Азии и Индии, что подтверждает гипотезу эндемичной циркуляции вируса [37]. Изоляты с редкими субтипами генотипа 3 были описаны в Индии, Бангладеш, Вьетнаме и Индонезии. Различные субтипы генотипа 3 остаются основной причиной инфекции ВГС в Индии. На основании филогенетического анализа редких неклассифицированных изолятов ВГС из Индии был введен новый субтип 3, обозначенный как 3g [42].

Генотипы 4 и 6 состоят из 17 и 24 редко встречающихся субтипов соответственно. Большинство из них преобладают на Ближнем Востоке, в некоторых регионах Африки, встречаются в странах Юго-Восточной Азии [21, 33].

Генотип 5 включает в себя только один субтип 5a. В южной части Африки на субтип 5a приходится более 50% всех инфекций ВГС [12].

Генотип 7 представлен одним субтипом 7a, недавно выявленным в Центральной Африке [36].

Несмотря на ограниченный ареал распространенности большинства редких субтипов, последние данные свидетельствуют об увеличении их спорадического присутствия в разных странах Европы; особенно на Юге Европы (в Италии, Греции, Испании) [30].

Известно, что на большинстве территорий бывшего СССР преобладает ВГС субтипа 1b, далее следуют 3a, 2a, 1a субтипы. При этом не показано существенных различий в распре-

делении генотипов для разных стран бывшего СССР среди ВГС-инфицированных доноров крови и больных ХВГС [55].

В Закавказском регионе наиболее высокий показатель распространенности ВГС отмечен для Грузии (6,7%) [45]. Анализ генотипов показал преобладание на территории Грузии генотипа 1 (42,0%) по сравнению с генотипами 3 (32,9%) и 2 (24,9%). У нескольких пациентов (0,1%) был выявлен генотип 4 [24]. ВГС генотипа 1 субтипа 1b также преобладает в Узбекистане (64,2%), субтип 3a встречается в Узбекистане с частотой 25,0%, субтипы 2a, 1a, 2b и 3b были выявлены в 3,8; 2,9; 2,9 и 1,0% случаев соответственно [28]. Несмотря на географическую удаленность, сходное распределение генотипов выявлено и в странах прибалтийского региона. Так, в Эстонии субтип 1b составляет 71%, субтип 3a — 24%, 2c — 2%, 1a — 1% и 2a — 1% [52]. В Латвии 77% ВГС изолятов принадлежали к субтипу 1b, 17% — к 3a и 6% составил субтип 2c [51]. Анализ распространенности ВГС в Литве демонстрирует несколько меньшее преобладание субтипа 1b (54,3%) по сравнению с субтипами 3a (23,9%), 2a (10,9%), 2b (4,3%) и инфицированием двумя субтипами одновременно (6,5%) [7].

Относительная распространенность генотипов ВГС в Белоруссии в целом соответствует ситуации в России: представлены субтипы 1b (53,8%), 3a (38,5%), 1a (5,1%); однако появление не характерных для РФ субтипов отражает более тесную связь с общеевропейскими миграционными процессами — 4a (1,3%) и 4d (1,3%) [40]. Известно, что субтипы 4, 5 и 6 ВГС занесены в европейскую популяцию инфицированными мигрантами из Южной и Юго-Восточной Азии, Ближнего Востока и Африки [17].

Интересно, что высокая распространенность ВГС была выявлена среди иммигрантов из бывшего СССР в Нью-Йорке. Распространенность гепатита С составила 11,1% для выходцев из России, 29,0% из Узбекистана, 31,0% с Украины, 36,8% из других регионов [8, 44].

В разных регионах Российской Федерации, несмотря на большие географические расстояния, показано сходное распределение генотипов ВГС 1b и 3a, и в целом оно соответствует средним показателям по России: субтип 1b составляет 52,1%, субтип 3a — 37,2% и около 2% случаев — иные субтипы HCV [3]. Тем не менее, распространенность генотипа 2a может значительно варьироваться в разных городах: от отсутствия этого генотипа в Санкт-Петербурге и Новосибирске до 3,7% в Барнауле, 4,3% в Краснодаре и 23,0% в Хабаровске [34]. В Западной Сибири субтипы 1b и 3a преобладают (50,3 и 44,8% соответственно), далее 2a (4,4%) и 2c (0,3%) [46]. Некоторый сдвиг распределе-

ния генотипов в сторону преобладания субтипа 3a (56,9%) по сравнению с 1b (29,2%) и 1a (11,9%) показан среди наркоманов и пациентов инфекционных стационаров в Санкт-Петербурге [41].

Необходимо отметить, что данные о распределении генотипов ВГС для некоторых субъектов Российской Федерации весьма ограничены, особенно это касается сельских регионов, Северной Сибири, Дальнего Востока, полярных регионов. Одним из таких регионов является Якутия. Это чрезвычайно обширная территория площадью 3 103,2 тыс. кв. километров. В то же время население республики в соответствии с данными Госкомстата РФ составляет всего 956 896 человек (плотность населения — 0,31 человек/км²), из которых 65,28% проживают в городах. В центральной части Якутии проживает около 500 000 человек (Якутск, Мегино-Кангаласский, Амгинский, Чурапчинский, Усть-Алданский, Мирнинский, Хангаласский улусы). Якутия является регионом с высокой распространенностью гепатита С. Заболеваемость хроническим гепатитом С в Якутии почти в два раза выше, чем в целом по России (по данным на 2013 г. — 43,2 на 100 000) [2, 43].

Предыдущие исследования показали, что большинство пациентов, инфицированных ВГС в Якутии, заражены генотипом 1 субтипом 1b (68,8–76,4%) и, в несколько меньшей степени, — субтипом 3a генотипа 3 (13,4–18,8%) [3]. Однако исследования были проведены с использованием методов серотипирования или с применением коммерческого набора ПЦР, предназначенного для выявления ограниченного диапазона генотипов (в основном 1a, 1b, 2, 3a субтипы). Вследствие этого до 19,8% ВГС-положительных образцов остались неопознанными.

В настоящее время для генотипирования ВГС используются различные методики: серотипирование ВГС, типоспецифическая ПЦР, гибридизация продуктов амплификации с адсорбированными геноспецифическими зондами (INNO-LiPA), ПДРФ-генотипирование и др. Но эталонным методом генотипирования ВГС является непосредственное определение первичной структуры РНК ВГС методом прямого секвенирования и последующий филогенетический анализ нуклеотидных последовательностей, который позволяет четко охарактеризовать вирусный изолят [39].

Прямое секвенирование NS5B области ВГС зарекомендовало себя как надежный способ для идентификации различных генотипов ВГС и считается методом выбора для характеристики вирусных изолятов во всем мире. Анализ последовательности NS5B для генотипирования

ВГС обеспечивает точную идентификацию генотипа и эпидемиологическую картину циркулирующих штаммов вируса [57].

В настоящем исследовании мы применили генотипирование на основе прямого секвенирования NS5B области РНК ВГС для оценки распространенности генетических вариантов ВГС у жителей Якутии, страдающих ХВГС с умеренной и высокой вирусной нагрузкой (более 100 000 МЕ/мл).

Задачей данного исследования была оценка распределения субтипов ВГС среди пациентов с высокой вирусной нагрузкой из разных регионов Республики Саха (Якутия).

Материалы и методы

Исследование было одобрено комитетом по этике ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера (Санкт-Петербург). Все пациенты дали письменное информированное согласие на участие в исследовании.

Материалом исследования служила плазма крови 60 пациентов с ХВГС из разных регионов Республики Саха (Якутия). Все пациенты удовлетворяли следующим критериям: положительные anti-HCV IgG; РНК ВГС положительная на протяжении по крайней мере

6 месяцев, умеренная или высокая вирусная нагрузка (более 100 000 МЕ/мл); отсутствие ВИЧ и/или HBV-коинфекции; возраст при регистрации ХВГС старше 18 лет. Исследуемая группа включала 25 мужчин и 35 женщин в возрасте от 18 до 60 лет. Представлены национальности: 32 саха, 3 эвенка, 1 бурят, 18 русских, 4 украинца, 1 молдаванин и 1 белорус.

Образцы были получены из 16 различных городов и сельских районов республики (Нюрбинский, Томпонский, Амгинский, Верхоянский, Кангаласский, Ленский, Сунтарский, Хангаласский, Чурапчинский, Вилюйский, Таттинский, Алданский районы; г. Якутск, г. Жатай, г. Мирный, г. Нерюнгри) (рис. 1).

Выделение РНК ВГС из образцов плазмы крови пациентов и обратную транскрипцию для получения кДНК проводили с использованием коммерческих наборов «АмплиПрайм Рибопреп» и «Реверта-L» (ФБУН ЦНИИЭ, Москва). Для ПЦР использовали перекрывающиеся пары праймеров, фланкирующих фрагмент NS5B региона протяженностью 383 нуклеотида (нт), с 8256 нт по 8638 нт, согласно представленному в международной базе данных GenBank изоляту H77 (AF009606) [26].

Состав амплификационной смеси: 15 пмоль/л каждого олигопраймера, 1,0 ммоль/л каждого ну-

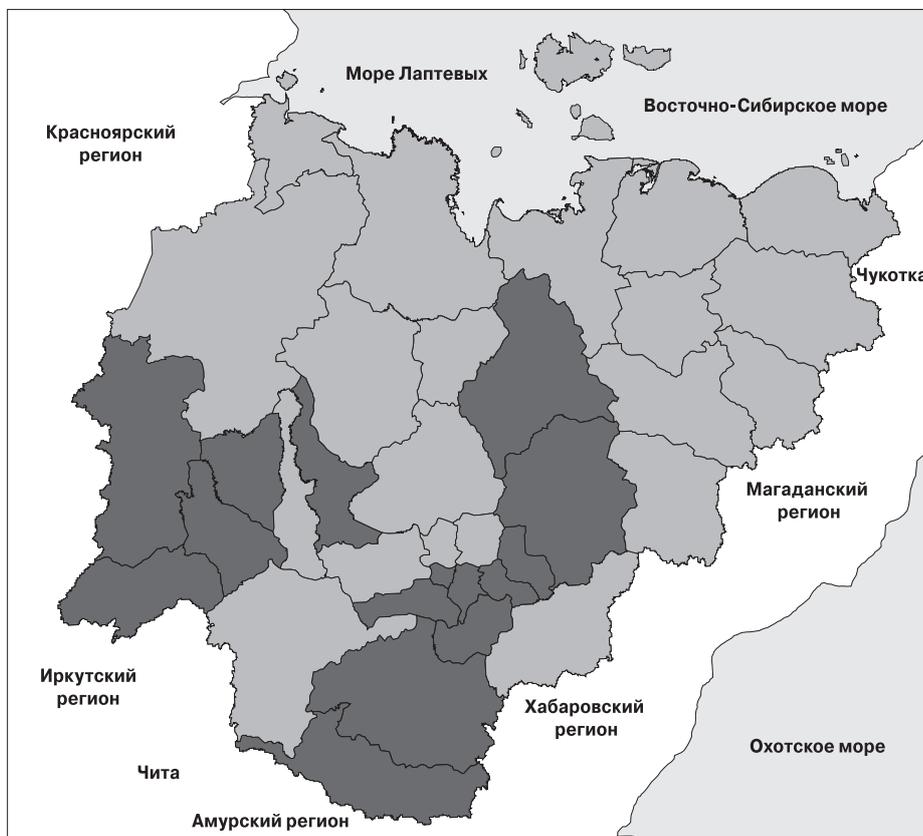


Рисунок 1. Районы сбора биологического материала на территории Якутии (отмечены темно-серым)

клеозидтрифосфата, 6,7 ммоль/л $MgCl_2$, 1 ед. рекомбинантной Taq ДНК-полимеразы (Fermentas), буфер для Taq ДНК-полимеразы (750 ммоль/л Трис-НСl, (рН 8,8), 200 ммоль/л $(NH_4)_2SO_4$, 0,1% (v/v) твин 20), DMSO 10% от конечного объема, 1 мкг матрицы, вода без нуклеаз до конечного объема 25 мкл. ПЦР проводили при следующих условиях: после денатурации при 95°C в течение 5 мин устанавливали 35 циклов амплификации в режиме: 95°C — 20 с, 58°C — 20 с, 72°C — 90 с; затем финальная элонгация при 72°C — 5 мин. Качество ПЦР определяли визуально в 2% агарозном геле (120 В, 40 мин; 1 × ТВЕ), окрашенном бромистым этидием.

Продукты первичной амплификации и секвенирующей реакции очищали по методике, рекомендованной для Qiaquick PCR Purification kit (Qiagen, Германия). Для анализа качества очищения осадок растворяли в 30 мкл ТЕ-буфера и визуализировали в агарозном геле. Концентрацию НК измеряли на флуориметре Qubit 2.0 по стандартной методике, рекомендованной производителем. Очищенный фрагмент с концентрацией 50–100 нг использовали для постановки секвенирующих реакций с прямого и обратного праймеров с использованием набора Genome Lab DTCS-Quick Start Kit (Beckman Coulter Inc., США). Для анализа продукта секвенирующей реакции очищенный осадок растворяли в SLS-буфере и помещали в генетический анализатор GenomeLab GeXP (Beckman Coulter Inc., США).

Первичный анализ полученного фрагмента проводили с помощью программы NCBI Blast в сравнении с нуклеотидными последовательностями, представленными в международной базе данных GenBank. Выравнивание нуклеотидных последовательностей проводили в программе MEGA версия 5, используя алгоритм ClustalW [23]. Для построения филогенетических деревьев использовали метод UPGMA, bootstrap N = 500 [53].

Результаты и обсуждение

Для всех 60 образцов была получена нуклеотидная последовательность NS5B региона удовлетворительного качества, пригодная для дальнейшего анализа.

Генотип и субтип были определены для всех образцов. На основании филогенетического анализа 60-ти изолятов показано, что среди обследованных больных ХВГС при умеренной и высокой вирусной нагрузке ВГС преобладает генотип 1 (88,3%) по сравнению с генотипом 2 (6,7%) и 3 (3,2%). При этом наиболее распространенным субтипом является субтип 1b (87,7%). Остальные субтипы найдены в единичных случаях: 1a — 1,6%, 2a — 6,7%, 3a — 1,6%, 3g — 1,6%.

Распределение генотипов ВГС в географических регионах Республики Саха (Якутия) представлено на рисунке 2.

В целом показанное нами распределение субтипов 1b, 1a, 2a соответствует ранее опубликованным данным, однако встречаемость субтипа 3a у больных ХВГС с умеренной и высокой вирусной нагрузкой значительно меньше, чем в популяции в целом [5]. Особый интерес представляет ВГС субтип 3g, впервые выявленный на территории РФ.

Установлено, что половая принадлежность и национальность не являются значимыми факторами для распределения генотипов ВГС в Якутии, что согласуется с результатами других исследований.

Несмотря на широкий временной спектр даты постановки диагноза ХВГС (ранние изоляты были идентифицированы как ВГС-положительные в 1992–1995 гг., последние изоляты — в 2011–2012 гг.), мы обнаружили низкую степень гетерогенности проанализированных штаммов ВГС. Филогенетический анализ показал, что некоторые из представленных штаммов ВГС циркулируют в различных районах Якутии на протяжении нескольких десятилетий. В то же время показаны кластеры изолятов ВГС субтипа 1b, отличающиеся от изолятов вышеупомянутого эпидемиологического спектра.

Для группы пациентов старше 40 лет (22 человека) показано наличие только 1b субтипа ВГС. Примечательно, что в Западной Сибири генотип 1 также преобладал в старшей возрастной группе — 75% среди пациентов 51–60 лет [47], в то время как для Уральского региона показано преобладание субтипа 1b среди лиц в возрасте от 15 до 27 лет. Преобладание субтипа 1b у больных ХВГС согласуется с результатами работ иностранных исследователей, показавших, что субтип 1b в основном распространяется через инвазивные медицинские манипуляции, трансфузиологические процедуры и другие внутрибольничные пути передачи [54]. Следует отметить, что в нашем исследовании были представлены только пациенты с умеренной и высокой вирусной нагрузкой. Полученные нами результаты о распространенности субтипа 1b согласуются с данными о связи высокого уровня виремии, большей длительности и тяжести течения заболевания печени у пациентов с наличием субтипа 1b, а также преимущественном развитии ХВГС у больных с этим субтипом ВГС [9].

При анализе последовательностей группы изолятов субтипа 1b процент идентичности нуклеотидов составил $96,03 \pm 0,45\%$. При сравнении фрагментов с представленными в GenBank последовательностями было показано очень близкое сходство (до 100% идентичности) некоторых штаммов из Якутии со штаммами

из США, Бразилии и Ирландии (см. рис. 3). Очевидно, что причиной этого может являться сходная направленность мутаций в гипервариабельной области NS5B.

Как известно, ВГС относится к вирусам с высокой частотой мутаций. Эти мутации направлены прежде всего на ускользание вируса от иммунного ответа организма хозяина или действия противовирусных лекарственных средств. Таким образом, «окружающая среда» вирусов в разных регионах мира во многом оказывается схожей; в особенности это касается возбудителей инфекции, для которых повсеместно применяются стандартизированные схемы противовирусной терапии. Микроэволюция вируса приводит к выявлению в разных странах крайне близких по нуклеотидному составу, особенно в гипервариабельных областях, изолятов, которые в действительности не имеют «родственных» связей. Филогенетический анализ при этом указывает на сходство эволюционных линий в разных регионах [55].

Относительно высокое сходство изученных нами изолятов с изолятами из США, а не России, обусловлено, скорее всего, не происхождением штаммов из США, Ирландии или Японии, а низким уровнем представленности в международной базе данных Genbank штаммов, изолированных на территории РФ. Так, например, в международной базе данных Genbank, по состоянию на сентябрь 2015 г., депонированы более 50 000 последовательностей (или фрагментов последовательностей) вируса гепатита С из США, 1847 последовательностей из Швеции, в то время как со всей России, несмотря на обширность территорий и количество проживающих, представлена только 931 последовательность ВГС, что сопоставимо с объемом описанных изолятов из Бельгии ($n = 720$). Данное обстоятельство становится серьезной проблемой для оценки распространенности генотипов гепатита С и анализа эпидемиологической ситуации в России, странах бывшего Советского Союза и географически близких регионах.

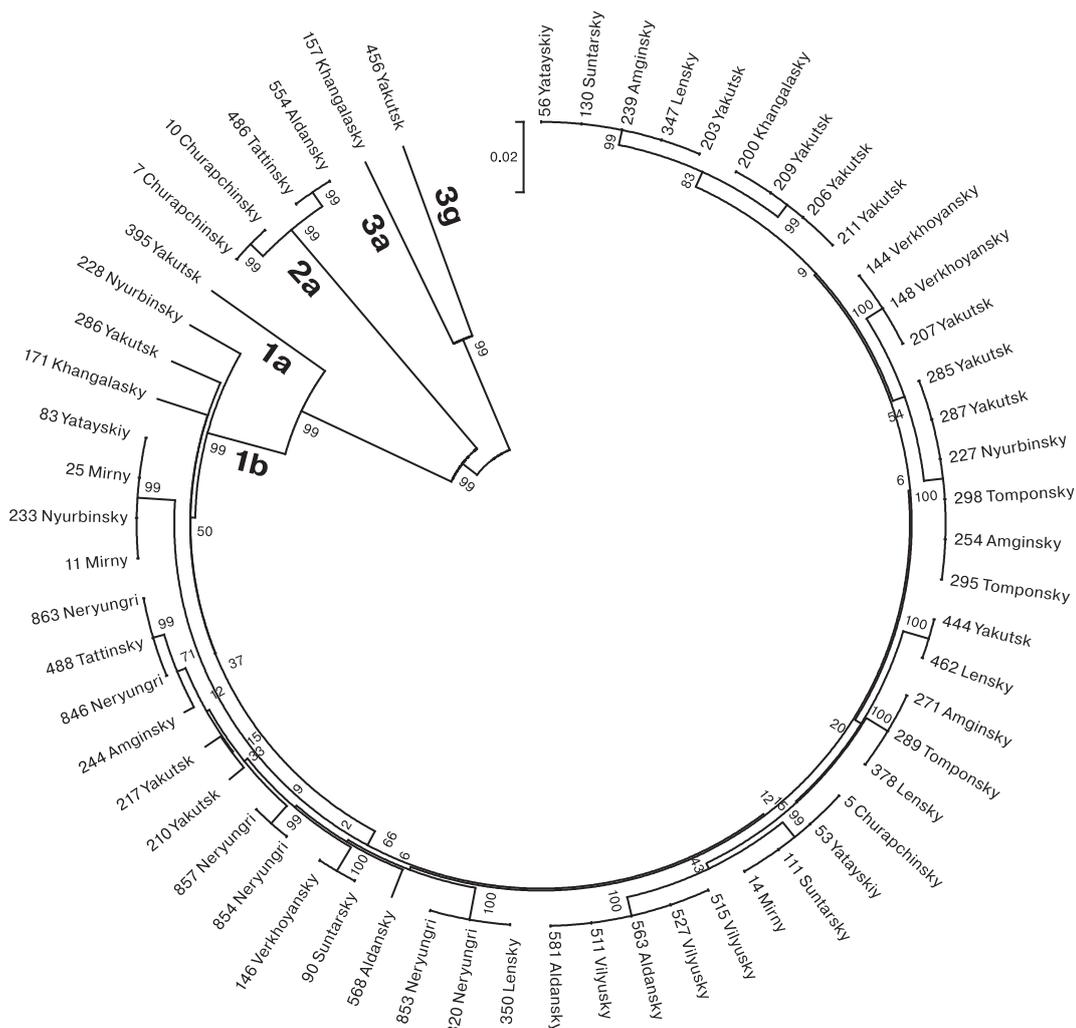


Рисунок 2. Дендрограмма, характеризующая филогенетические отношения изолятов ВГС, выделенных от пациентов с ХВГС из разных регионов Республики Саха (Якутия)

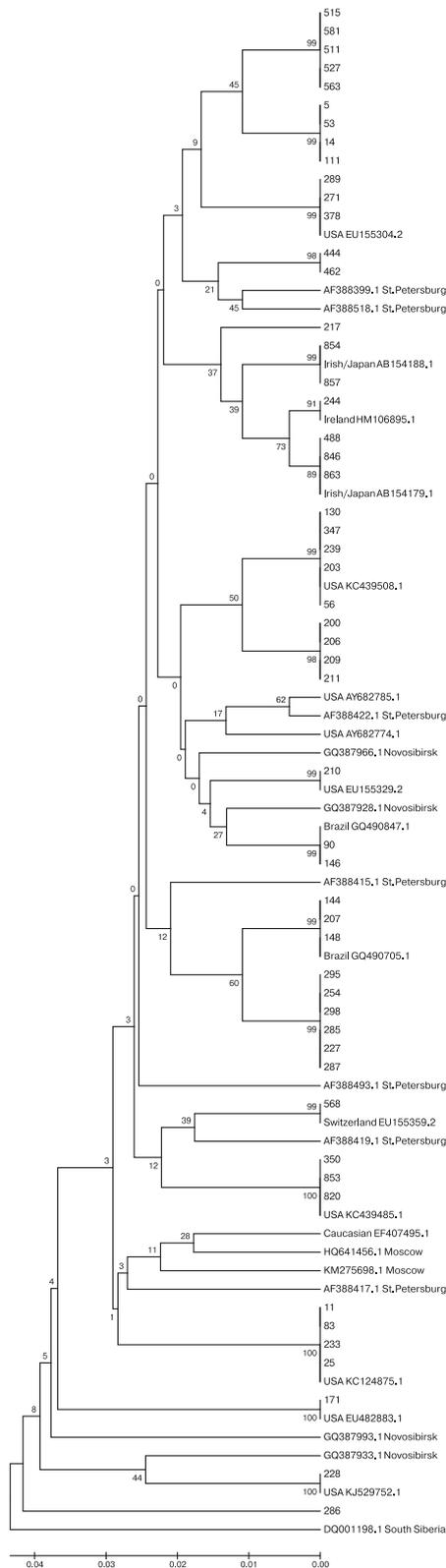


Рисунок 3. Дендрограмма, характеризующая филогенетические отношения изолятов ВГС субтипа 1b, выделенных от пациентов с ХВГС из разных регионов Якутии, в сравнении с представленными в международной базе данных GenBank последовательностями максимально идентичных штаммов ВГС из других регионов России и зарубежных стран

Тесная связь распространенности тех или иных генотипов в различных группах (включая группы высокого риска) с выявленными путями передачи, а не с географической близостью показал Linqi Zhang и др. [32].

Особый интерес для эпидемиологов представляют случаи семейного гепатита С. Высокая степень сходства генома вируса поддерживает гипотезу о возможной передаче ВГС внутри семейного очага, в том числе через совместное использование предметов личной гигиены [11]. В исследовании принимала участие супружеская пара в возрасте старше 50 лет, проживающая в г. Якутске. Оба пациента с ХВГС и высокой вирусной нагрузкой инфицированы ВГС субтипа 1b. Однако эти штаммы существенно отличаются друг от друга: процент идентичности нуклеотидной последовательности составил всего 92% (рис. 4).

Низкий процент сходства нуклеотидной последовательности позволяет предположить, что партнеры были инфицированы разными изолятами вируса из разных источников. Заражение партнеров разными штаммами — случай редкий, требующий дальнейшего более глубокого изучения, однако не исключительный. Известны, например, две семейные пары, у которых процент идентичности нуклеотидной последовательности составлял 70,1% (генотипы 2b/1b) и 82,2% (1b/1a) соответственно [12].

В нашем исследовании субтип 2a ВГС составил 6,7%. Мы выявили две группы пациентов с генотипом 2a. Процент нуклеотидной идентичности между группами составил $98 \pm 0,27\%$, что, несмотря на территориальное деление, позволяет предположить общий источник инфекции. Субтип 2a ВГС не характерен для Якутии, и определение потенциального источника его происхождения представляется значимым для выявления путей распространения вируса. На рис. 5 показано сравнение NS5B области изолятов, выделенных от пациентов из Якутии, с представленными в международной базе данных GenBank последовательностями из других областей РФ и с наиболее сходными последовательностями из других стран. Очевидна тесная связь изолятов из Якутии с изолятами ВГС субтипа 2a, найденными в Китае. Учитывая обширные торгово-экономические отношения Якутии со странами Восточной Азии, нельзя исключить сравнительно недавний завоз этих изолятов.

Наиболее редким в нашем исследовании оказался ВГС генотип 3 (3,2%).

Ранее для Якутии была показана высокая распространенность ВГС генотипа 3 субтипа 3a. Так, например, в 2000 г. частота встречаемости ВГС субтипа 3a составила 16%, а среди лиц, употребляющих наркотики, субтип 3a яв-

Query 286f	1	TATGACACCCGCTGCTTTGACTCAACGGTCACAGAGAGTGACATCCGTTGAGGAGTCA	60
Query 287m	1T.....T.....C.....C.....	60
Query 286f	61	ATTTACCAATGTTGTGACCTGGCCCCGAAGCCAGACAGGCCATAAGGTCGCTCACAGAG	120
Query 287m	61T.....A.....G...	120
Query 286f	121	CGGCTCTATATCGGGGGTCTTTGACTAATTCAAAGGGCAGAACTGCGGTTATCGCCGA	180
Query 287m	121T..C..T.....C..CC.....G	180
Query 286f	181	TGCCGCGGAGCGGCGTGTGACGACCAGCTGCGGTAATACCCCTCACATGTTACTTGAAG	240
Query 287m	181T.....T.....	240
Query 286f	241	GCCTCTGCAGCCTGTTCGAGCTGCGGAGCTCGAGGACTACACGATGCTCGTGGACGGCGAC	300
Query 287m	241G.....AA.....C.....G.....TG...A...	300
Query 286f	301	GACCTAGTCGTTATCTGCGAAAGCGCGGGAACCCAAGAGGATGCGGCGAACCCTACGAGTC	360
Query 287m	301T.....T.....G.....C.....A.G.....	360
Query 286f	361	TTCACGGAGGCTATGACTAGGTA	383
Query 287m	361	383

Рисунок 4. Сравнение нуклеотидных последовательностей NS5B области ВГС изолятов, выделенных от супружеской пары (жена — образец № 286, муж — образец № 287)

лялся преобладающим [1]. Некоторые штаммы генотипа 3 (субтипы 3a и 3b) распространились по всему миру в основном за счет передачи через потребителей инъекционных наркотиков, а также завозились инфицированными мигрантами в Россию, Европу и Северную Америку. Соответственно, субтипы 3a в Европе и России могут существенно отличаться от субтипов 3a в Средней Азии и в Индостане. В данном исследовании было выявлено только два изолята генотипа 3. Так как мы исследовали группу больных ХВГС с умеренной и высокой вирусной нагрузкой, низкая встречаемость генотипа 3 ВГС в данной группе не противоречит вышеизложенным данным. Однако нуклеотидная последовательность наших изолятов отличается от представленных в базе данных изолятов, выявленных на территории РФ ранее, и изолятов из других стран (максимальный процент нуклеотидной идентичности составил 97%) (рис. 6).

Можно предположить, что обнаруженный в данном исследовании изолят ВГС субтипа 3a импортирован из стран Индостана или других стран Южной и Средней Азии, где эволюция и эпидемиология гепатита С могут отличаться от тех, что представлены в европейских странах.

Тем не менее, процент идентичности нуклеотидной последовательности между изолятом № 157 и штаммом GQ388011.1 из Новосибирска составил 91%. Поскольку, как уже было упомянуто, нуклеотидные последовательности ВГС из России слабо представлены в международной базе данных, разница между ними, равная 9%, для таких крупных регионов не является существенной. Масштабный скрининг ВГС в Российской Федерации позволило бы оценить пути распространения и время эволюционного разделения изолятов вируса.

Особенный интерес представляет впервые выявленный на территории РФ ВГС субтип 3g. Выбранная нами для генотипирования область

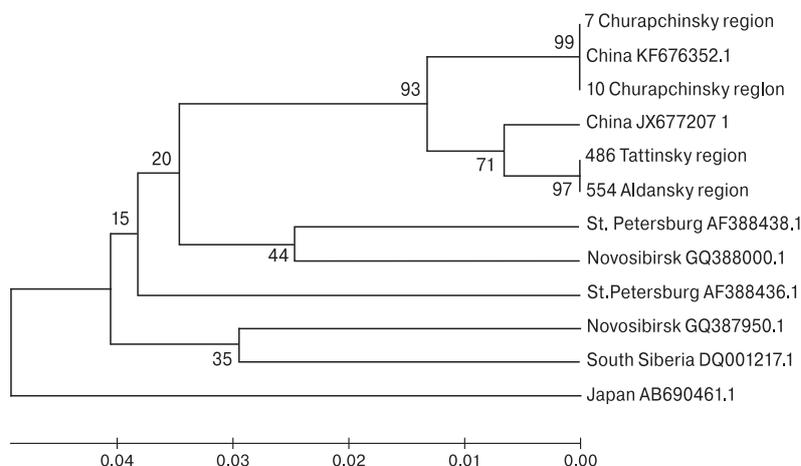


Рисунок 5. Дендрограмма, характеризующая филогенетические отношения изолятов ВГС субтипа 2a, выделенных от пациентов с ХВГС из разных регионов Якутии, в сравнении с представленными в международной базе данных последовательностями максимально идентичных штаммов ВГС из РФ, Китая и Японии

NS5B охватывает достаточно обширный фрагмент срединного гиперварибельного участка гена NS5B для обеспечения правильной идентификации субтипов выделенных нами штаммов.

Максимальный процент идентичности выявленного изолята субтипа 3g составил 97 и 100% с представленными в международной базе данных штаммами от пациентов, иммигрировавших из Пакистана (EF116087.1) и Ливана (JF735123.1), проживающих в Канаде (рис. 7).

Ранее на территории Якутии выявляли генотип 4 ВГС, который также не характерен для этого региона [52]. Генотип 4 ВГС приобретает все большую распространенность в Европе, включая не только страны южной и восточной Европы, но и территории, не имеющие общих границ со странами, эндемичными по ВГС.

В целом, анализ эпидемиологической ситуации по ВГС показывает высокую изменчивость

генотипов и их распространенность по всей Европе, в Канаде и в Израиле и зависимость от иммиграционных волн. Так, например, в Нидерландах на основании филогенетического анализа NS5B области были выявлены три различных кластера с конкретными эпидемиологическими профилями: египетские иммигранты, голландские пациенты с употреблением инъекционных наркотиков в анамнезе и гомосексуалисты [13].

Инфекции ВГС, приобретенные в эндемичных странах, могут быть четко определены на основании анализа нуклеотидной последовательности. Мы предполагаем, что выявленный изолят ВГС субтипа 3g импортирован сравнительно недавно и происходит из арабских стран. При сборе эпиданамнеза было выяснено, что пациент является одиноким активным мужчиной, приверженцем путешествий в за-

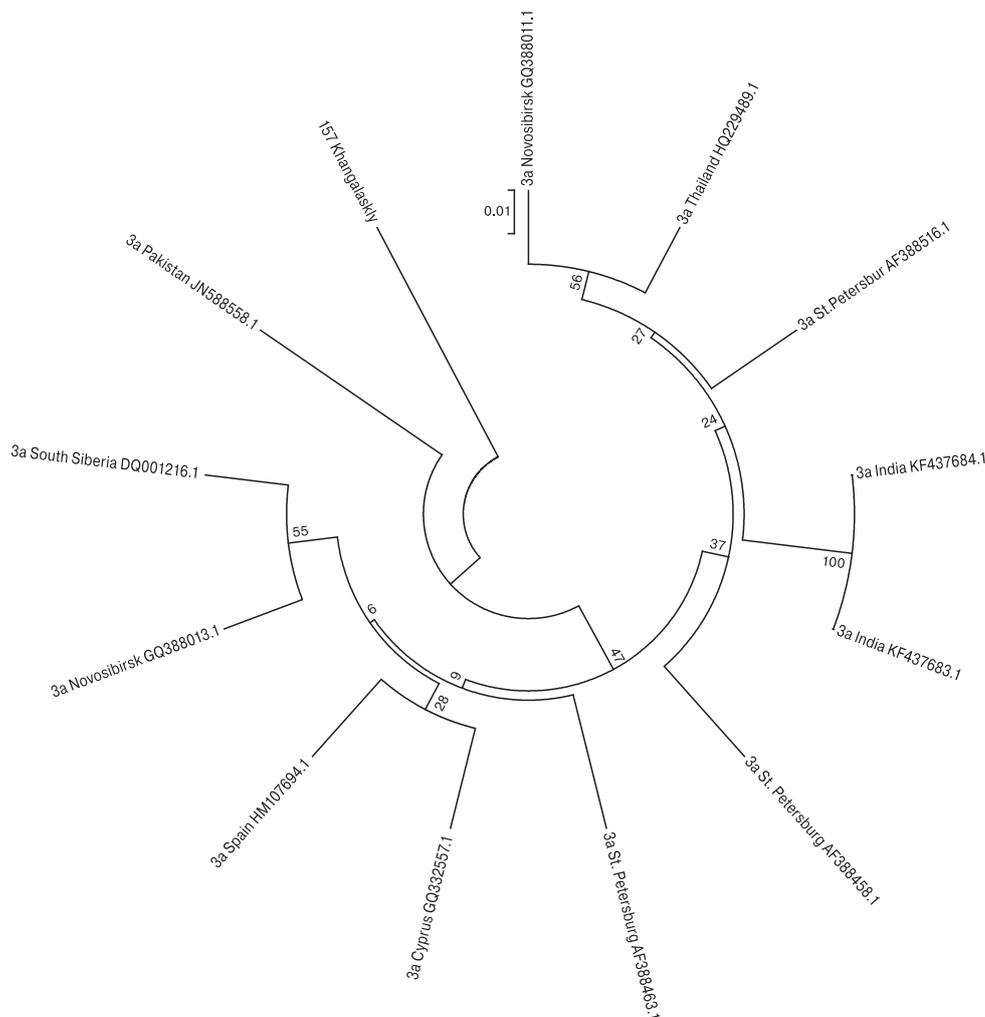


Рисунок 6. Дендрограмма, характеризующая филогенетические отношения изолята ВГС субтипа 3а, выделенного от пациента с ХВГС из Хангаласского региона Якутии, в сравнении с представленными в международной базе данных Genbank последовательностями максимально идентичных штаммов ВГС из РФ и других стран

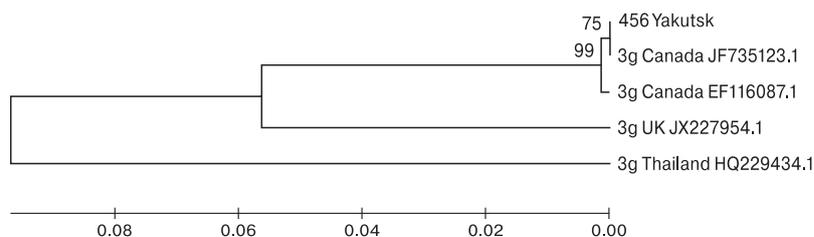


Рисунок 7. Дендрограмма, характеризующая филогенетические отношения изолята ВГС субтипа 3g, выделенного от пациента с ХВГС из Якутска, в сравнении с представленными в международной базе данных Genbank последовательностями максимально идентичных штаммов ВГС из РФ и других стран

рубежные страны, в том числе в экзотические. Вероятнее всего, заражение произошло в одной из стран арабского региона. Данное обстоятельство демонстрирует необходимость пристального наблюдения отечественных эпидемиологов и инфекционистов за эпидемиологической ситуацией не только в РФ, но и в других странах.

Таким образом, становятся очевидными причины, по которым необходимо масштабное скринирование изолятов ВГС в Российской Федерации с использованием прямого секвенирования последовательностей.

Выявление 3g субтипа ВГС в нашем исследовании и генотипа 4 в другом исследовании, проведенном среди пациентов с ХВГС из Якутии, показывает, что на территории РФ могут встречаться редкие и экзотические субтипы ВГС, которые не определяются коммерческими наборами. Таким образом, эпидемиологическая картина в регионах оказывается неполной.

Генотипирование с использованием прямого секвенирования позволяет точно определить

субтип генотипа ВГС, независимо от ограничений, свойственных для коммерческих наборов. Для установления способа заражения и оценки распространенности инфекции необходим филогенетический анализ вируса, что не представляется возможным без использования прямого секвенирования изолятов.

Исследование распределения генотипов часто проводится в крупных городах, таких как Москва, Санкт-Петербург и Новосибирск. Однако распределение генотипов ВГС в крупных городах может существенно отличаться от распределения генотипов ВГС в различных регионах РФ.

Использование комплекса молекулярных, вирусологических, демографических и эпидемиологических методов будет способствовать пониманию текущей эпидемиологической ситуации по ВГС в России.

Систематическое применение молекулярной филогенетики может быть использовано для повышения качества надзора и выявления новых инфекционных кластеров.

Список литературы/References

1. Вирусные гепатиты в Российской Федерации. Аналитический обзор. 9 выпуск / Под ред. Покровского В.И., Жебруна А.Б. СПб.: ФБУН НИИЭМ им. Пастера, 2013. 168 с. [Virusnye gepatity v Rossiiskoi Federatsii. Analiticheskii obzor. 9 vypusk. Pod red. Pokrovskogo V.I., Zhebruna A.B. [Viral hepatitis in the Russian Federation. Analytical review. 9th issue. Eds V.I. Pokrovskiy, A.B. Zhebrun]. *St. Petersburg Pasteur Institute, 2013, 168 p.*]
2. О санитарно-эпидемиологической обстановке в Республике Саха (Якутия) в 2013 г.: Госуд. доклад. Якутск: Управление Роспотребнадзора по Республике Саха (Якутия). 2013. 282 с. [About sanitary and epidemiological situation in the Republic of Sakha (Yakutia) in 2013. *Yakutsk: State report. Yakutsk Rospotrebnadzor for the Republic of Sakha (Yakutia). 2013, 282 p. (In Russ.)*]
3. Самохвалов Е.И., Николаева Л.И., Альховский С.В., Хлопова И.Н., Макашова В.В., Петрова Е.В., Сапронов Г.В., Беляева Н.М., Львов Д.К. Частота встречаемости отдельных субтипов вируса гепатита С в Московском регионе // Вопросы вирусологии. 2013. № 58 (1). С. 36–40. [Samokhvalov E.I., Nikolaeva L.I., Al'khovskii S.V., Khlopova V.V., Petrova E.V., Saponov G.V., Beliaeva N.M., L'vov D.K. Frequency of detection of different hepatitis C virus subtypes in the Moscow region]. *Voprosy virusologii = Problems of Virology, 2013, vol. 58, no. 1, pp. 36–40. (In Russ.)*]
4. Семенов С.И., Терехова М.В., Индеева Л.Д., Павлов Н.Н., Тихонова Н.Н., Кузин С.Н., Писарева М.М., Грудинин М.П., Балахонцева Л.А., Серкина Т.П. Распространенность и генетическая характеристика вируса гепатита С в Якутии // Якутский медицинский журнал. 2009. № 2 (26). С. 129–132. [Semenov S.I., Terehova M.V., Indeeva L.D., Pavlov N.N., Tihonova N.N., Cusin S.N., Pisareva M.M., Grudinina M.P., Balahontseva L.A., Serkina T.P. Hepatitis C prevalence and genetic characteristic in Yakutia]. *Yakutskii meditsinskii zhurnal = Yakut Medical Journal, 2009, vol. 2 no. 26, pp. 129–132. (In Russ.)*]
5. Степанова Г.И., Алексеева М.Н., Слепцова С.С. Клинические особенности хронического вирусного гепатита С в Республике (Саха) Якутия // Фундаментальные исследования. 2004. № 2. С. 97–98 [Stepanova G.I., Alekseeva M.N., Sleptsova S.S. Clinical features of chronic hepatitis C in the republic (Sakha) Yakutia]. *Fundamental'nye issledovaniya = Basic Research, 2004, no. 2, pp. 97–98. (In Russ.)*]

6. Ahmed A.M., Hassan M.S., Abd-Elseyed A., Hassan H., Hasanain A.F., Helmy A. Insulin resistance, steatosis, and fibrosis in Egyptian patients with chronic hepatitis C virus infection. *Saudi J. Gastroenterol.*, 2011, vol. 17 no. 4, pp. 245–251. doi: 10.4103/1319-3767.82578
7. Ambrozaitis A., Agminas K.S., Balc I.G., Widell A. Hepatitis C in Lithuania: incidence, prevalence, risk factors and viral genotypes. *Clin. Diagn. Virol.*, 1995, vol. 4 no. 4, pp. 273–284.
8. Batash S., Khaykis I., Raicht R.F., Bini E.J. High prevalence of hepatitis C virus infection among immigrants from the former Soviet Union in the New York City metropolitan area: results of a community based screening program. *Am. J. Gastroenterol.*, 2008, vol. 103, no. 4, pp. 922–927. doi: 10.1111/j.15720241.2008.01789.x
9. Blatt L.M., Mutchnick M.G., Tong M.J., Klion F.M., Lebovics E., Freilich B., Bach N., Smith C., Herrera J., Tobias H., Conrad A., Schmid P., McHutchison J.G. Assessment of hepatitis C virus RNA and genotype from 6807 patients with chronic hepatitis C in the United States. *J. Viral. Hepat.*, 2000, vol. 7, no. 3, pp. 196–202. doi: 10.1046/j.1365-2893.2000.00221.x
10. Bracho M.A., Saludes V., Martró E., Bargalló A., González-Candelas F., Ausina V. Complete genome of a european hepatitis C virus subtype 1g isolate: phylogenetic and genetic analyses. *Virol. J.*, 2008, vol. 5, pp. 72–79. doi: 10.1186/1743-422X-5-72
11. Cavalheiro Nde P., De La Rosa A., Elagin S., Tengan F.M., Araújo E.S., Barone A.A. Hepatitis C: sexual or intrafamilial transmission? Epidemiological and phylogenetic analysis of hepatitis C virus in 24 infected couples. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.*, 2009, vol. 42, no. 3, pp. 239–244.
12. Chamberlain R.W., Adams N.J., Taylor L.A., Simmonds P., Elliott R.M. The complete coding sequence of hepatitis C virus genotype 5a, the predominant genotype in South Africa. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1997, vol. 236, pp. 44–49.
13. Chuang W.L., Yu M.L. Host factors determining the efficacy of hepatitis C treatment. *J. Gastroenterol.*, 2013, vol. 48, no. 1, pp. 22–30. doi: 10.1007/s00535-012-0669-x
14. Cramp M.E., Rosenberg W.M., Ryder S.D., Blach S., Parkes J. Modelling the impact of improving screening and treatment of chronic hepatitis C virus infection on future hepatocellular carcinoma rates and liverrelated mortality. *BMC Gastroenterol.*, 2014, vol. 14, pp. 137–47. doi: 10.1186/1471-230X-14-137
15. De Bruijne J., Schinkel J., Prins M., Koekkoek S.M., Aronson S.J., van Ballegooijen M.W., Reesink H.W., Molenkamp R., van de Laar T.J. Emergence of hepatitis C virus genotype 4: phylogenetic analysis reveals three distinct epidemiological profiles. *J. Clin. Microbiol.*, 2009, vol. 47, no. 12, pp. 3832–3838. doi: 10.1128/JCM.01146-09
16. Debojyoti B., Kheya M., Goutam C., Ranadeep G., Nabaran M., Mohua B. Correlation study between HCV genotypes distribution pattern and viral load in a tertiary care hospital in Kolkata, India. *J. Clin. Diagn. Res.*, 2015, vol. 9 no. 5, pp. DC15–17. doi: 10.7860/JCDR/2015/12701.5977
17. Demetriou V.L., Kostrikis L.G. Nearfull genome characterization of unclassified hepatitis C virus strains relating to genotypes 1 and 4. *J. Med. Virol.*, 2011, vol. 83, pp. 2119–2127. doi: 10.1002/jmv.22237
18. Dustin L.B., Rice C.M. Flying under the radar: the immunobiology of hepatitis C. *Annu. Rev. Immunol.*, 2013, vol. 25, pp. 71–99.
19. EASL clinical practice guidelines: management of hepatitis C virus infection. *J. Hepatol.*, 2011, vol. 55, pp. 245–264. doi: 10.1016/j.jhep.2011.02.023
20. Esmat G., Hashem M., El-Raziky M., El-Akel W., El-Naghy S., El-Koofy N. Risk factors for hepatitis C virus acquisition and predictors of persistence among Egyptian children. *Liver Int.*, 2012, vol. 32, no. 3, pp. 449–456. doi: 10.1111/j.1478-3231.2011.02643.x
21. Gededzha M.P., Selabe S.G., Kyaw T., Rakgole J.N., Blackard J.T., Mphahlele M.J. Introduction of new subtypes and variants of hepatitis C virus genotype 4 in South Africa. *J. Med. Virol.*, 2012, vol. 84, no. 4, pp. 601–607. doi: 10.1002/jmv.23215
22. Ghany M.G., Strader D.B., Thomas D.L., Seeff L.B., American association for the study of liver diseases. Diagnosis, management, and treatment of hepatitis C: an update. *Hepatology*, 2009, vol. 49, no. 4, pp. 1335–1374. doi: 10.1002/hep.22759
23. Higgins D.G., Bleasby A.J., Fuchs R. CLUSTAL V: improved software for multiple sequence alignment. *Comput. Appl. Biosci.*, 1992, vol. 8, no. 2, pp. 189–191.
24. Karchava M., Waldenström J., Parker M., Hallack R., Sharvadze L., Gatsrelia L., Chkhartishvili N., Dvali N., Dzigua L., Dolmazashvili E., Norder H., Tsertsvadze T. High incidence of the hepatitis C virus recombinant 2k/1b in Georgia: Recommendations for testing and treatment. *Hepatol. Res.*, 2015. doi: 10.1111/hepr.12505
25. Kavita S.L., Jyotsna A.J., Sandhya P.S., Badri N.T., Mohan Prasad V.G., Vidya A.A. Comparison of hepatitis C virus genotyping by 5' noncoding region and core based reverse transcriptase PCR assay with sequencing and use of the assay for determining subtype distribution in India. *J. Clin. Microbiol.*, 2003, vol. 41, no. 11, pp. 5240–5244.
26. Kuiken C., Combet C., Bukh J., Shin I., Deleage G., Mizokami M., Richardson R., Sablon E., Yusim K., Pawlotsky J.M., Simmonds P. A comprehensive system for consistent numbering of HCV sequences, proteins and epitopes. *Hepatology*, 2006, vol. 44, no. 5, pp. 1355–1361.
27. Kuiken C., Simmonds P. Nomenclature and numbering of the hepatitis C virus. *Methods. Mol. Biol.*, 2009, vol. 510, pp. 33–53. doi: 10.1007/978-1-59745-394-3_4
28. Kurbanov F., Tanaka Y., Sugauchi F., Kato H., Ruzibakiev R., Zalyalieva M., Yunusova Z., Mizokami M. Hepatitis C virus molecular epidemiology in Uzbekistan. *J. Med. Virol.*, 2003, vol. 69, no. 3, pp. 367–375.
29. Lavanchy D. The global burden of hepatitis C. *Liver Int.*, 2009, vol. 29, suppl. 1, pp. 74–81. doi: 10.1111/j.14783231.2008.01934.x
30. Li C., Lu L., Wu X., Wang C., Bennett P., Lu T., Murphy D. Complete genomic sequences for hepatitis C virus subtypes 4b, 4c, 4d, 4g, 4k, 4l, 4m, 4n, 4o, 4p, 4q, 4r and 4t. *J. Gen. Virol.*, 2009, vol. 90, pt. 8, pp. 1820–1826. doi: 10.1099/vir.0.010330-0
31. Li C., Cao H., Lu L., Murphy D. Full-length sequences of 11 hepatitis C virus genotype 2 isolates representing five subtypes and six unclassified lineages with unique geographical distributions and genetic variation patterns. *J. Gen. Virol.*, 2012, vol. 93, pt. 6, pp. 1173–1184. doi: 10.1099/vir.0.038315-0

32. Linqi Z., Zhiwei C., Yunzhen C., Jian Y., Guanghan L., Wenjie Y., Ning Y., Shan M., Li L., Balfé P., Tian H., Lei B., Fengwen Z., His-Hsun L., Man-Fung Y., Ching-Lung L., David D.H. Molecular characterization of human immunodeficiency virus type 1 and hepatitis C virus in paid blood donors and injection drug users in China. *J. Virol.*, 2004, vol. 78, no. 24, pp. 13591–13599. doi: 10.1128/JVI.78.24.1359113599.2004
33. Lu L., Li C., Fu Y., Thaikruea L., Thongswat S., Maneekarn N., Apichartpiyakul C., Hotta H., Okamoto H., Netski D., Pybus O.G., Murphy D., Hagedorn C.H., Nelson K.E. Complete genomes for hepatitis C virus subtypes 6f, 6i, 6j and 6m: viral genetic diversity among Thai blood donors and infected spouses. *J. Gen. Virol.*, 2007, vol. 88, pt. 5, pp. 1505–1518.
34. Maksyutov R.A., Gavrilova E.V., Maksyutov A.Z., Kanev A.N. Genotyping of hepatitis B and C virus Russian isolates for reference serum panel construction. *J. Med. Virol.*, 2015, vol. 87, no. 7, pp. 1192–1198. doi: 10.1002/jmv.24170
35. Murphy D.G., Sablon E., Chamberland J., Fournier E., Dandavino R., Tremblay C.L. Hepatitis C virus genotype 7, a new genotype originating from central Africa. *J. Clin. Microbiol.*, 2015, vol. 53, no. 3, pp. 967–972. doi: 10.1128/JCM.02831-14
36. Myers R.P., Krajden M., Bilodeau M., Kaita K., Marotta P., Peltekian K., Ramji A., Estes C., Razavi H., Sherman M. Burden of disease and cost of chronic hepatitis C infection in Canada. *Can. J. Gastroent. Hepatol.*, 2014, vol. 28, no. 5, pp. 243–250.
37. Newman R.M., Kuntzen T., Weiner B., Berical A., Charlebois P., Kuiken C., Murphy D.G., Simmonds P., Bennett P., Lennon N.J., Birren B.W., Zody M.C., Allen T.M., Henn M.R. Whole genome pyrosequencing of rare hepatitis C virus genotypes enhances subtype classification and identification of naturally occurring drug resistance variants. *J. Infect. Dis.*, 2013, vol. 208, no. 1, pp. 17–31. doi: 10.1093/infdis/jis679
38. Nishiya A.S., de Almeida-Neto C., Ferreira S.C., Alencar C.S., Di-Lorenzo-Oliveira C., Levi J.E., Salles N.A., Mendrone A. Jr, Sabino E.C. HCV genotypes, characterization of mutations conferring drug resistance to protease inhibitors, and risk factors among blood donors in São Paulo, Brazil. *PLoS One*, 2014, vol. 9, no. 1, e86413. doi: 10.1371/journal.pone.0086413
39. Ohno T., Lau J.Y. The “gold-standard”, accuracy, and the current concepts: hepatitis C virus genotype and viremia. *Hepatology*, 1996, vol. 24, no. 5, pp. 1312–1315.
40. Olinger C.M., Lazouskaya N.V., Eremin V.F., Muller C.P. Multiple genotypes and subtypes of hepatitis B and C viruses in Belarus: similarities with Russia and western European influences. *Clin. Microbiol. Infect.*, 2008, vol. 14, no. 6, pp. 575–581. doi: 10.1111/j.14690691.2008.01988.x
41. Paintsil E., Verevokhin S.V., Dukhovlina E., Niccolai L., Barbour R., White E., Toussova O.V., Alexander L., Kozlov A.P., Heimer R. Hepatitis C virus infection among drug injectors in St. Petersburg, Russia: social and molecular epidemiology of an endemic infection. *Addiction*, 2009, vol. 104, no. 11, pp. 1881–1890. doi: 10.1111/j.13600443.2009.02687.x
42. Panigrahi A.K., Roca J., Acharya S.K., Jameel S., Panda S.K. Genotype determination of hepatitis C virus from northern India: identification of a new subtype. *J. Med. Virol.*, 1996, vol. 48, no. 2, pp. 191–198.
43. Semjonov S.I., Savvin R.G., Nikitina S.G., Maximova S.S., Sleptsova S.S. Parenteral viral hepatitis (B, C, D) in the Sakha Republic (Yakutia). *Life Sci. J.*, 2014, vol. 11, no. 8, pp. 454–458.
44. Sharma S., Carballo M., Feld J.J., Janssen H.L. Immigration and viral hepatitis. *J. Hepatol.*, 2015, vol. 63, no. 2, pp. 515–522. doi: 10.1016/j.jhep.2015.04.026
45. Sharvadze L., Nelson K.E., Imnadze P., Karchava M., Tsertsvadze T. Prevalence of HCV and genotypes distribution in general population of Georgia. *Georgian Med. News*, 2008, vol. 165, pp. 71–77.
46. Shustov A.V., Kochneva G.V., Sivolobova G.F., Grazhdantseva A.A., Gavrilova I.V., Akinfeeva L.A., Rakova I.G., Aleshina M.V., Bukin V.N., Orlovsky V.G., Bepalov V.S., Robertson B.H., Netesov S.V. Molecular epidemiology of the hepatitis C virus in Western Siberia. *J. Med. Virol.*, 2005, vol. 77, no. 3, pp. 382–389.
47. Simmonds P., Bukh J., Combet C., Deleage G., Enomoto N., Feinstone S., Halfon P., Inchauspe G., Kuiken C., Maertens G., Mizokami M., Murphy D.G., Okamoto H., Pawlotsky J.M., Penin F., Sablon E., Shin I.T., Stuyver L.J., Thiel H.J., Viazov S., Weiner A.J., Widell A. Consensus proposals for a unified system of nomenclature of hepatitis C virus genotypes. *Hepatology*, 2005, vol. 42, no. 4, pp. 962–973. doi: 10.1002/hep.20819
48. Simmonds P., Mellor J., Sakuldamrongpanich T., Nuchaprayoon C., Tanprasert S., Holmes E.C., Smith D.B. Evolutionary analysis of variants of hepatitis C virus found in South-East Asia: comparison with classifications based upon sequence similarity. *J. Gen. Virol.*, 1996, vol. 77, pt. 12, pp. 3013–3024.
49. Singh P., Bhatia V., Pandey M., Shashank M., Tidke P., Jha N., Dutt S. HCV genotypes distribution pattern & its association with viral load in India. *Int. J. Recent Sci. Res.*, 2013, vol. 4, no. 11, pp. 1682–1684.
50. Smith D.B., Bukh J., Kuiken C., Muerhoff A.S., Rice C.M., Stapleton J.T., Simmonds P. Expanded classification of hepatitis C virus into 7 genotypes and 67 subtypes: updated criteria and genotype assignment web resource. *Hepatology*, 2014, vol. 59, no. 1, pp. 318–327. doi: 10.1002/hep.26744
51. Sominskaya I., Mihailova M., Jansons J., Emelyanova V., Folkmane I., Smagris E., Dumpis U., Rozentals R., Pumpens P. Hepatitis B and C virus variants in longterm immunosuppressed renal transplant patients in Latvia. *Intervirology*, 2005, vol. 48, no. 2–3, pp. 192–200.
52. Tallo T., Norder H., Tefanova V., Krispin T., Schmidt J., Ilmoja M., Orgulas K., Pruunsild K., Priimagi L., Magnius L.O. Genetic characterization of hepatitis C virus strains in Estonia: fluctuations in the predominating subtype with time. *J. Med. Virol.*, 2007, vol. 79, no. 4, pp. 374–382.
53. Tamura K., Peterson D., Peterson N., Stecher G. Nei M., Kumar S. MEGA5: molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. *Mol. Biol. Evol.*, 2011, vol. 28, no. 10, pp. 2731–2739. doi: 10.1093/molbev/msr121

54. Van de Laar T.J., Koppelman M.H., van der Bij A.K., Zaaier H.L., Cuijpers H.T., van der Poel C.L., Coutinho R.A., Bruisten S.M. Diversity and origin of hepatitis C virus infection among unpaid blood donors in the Netherlands. *Transfusion*, 2006, vol. 46, no. 10, pp. 1719–1728.
55. Viazov S., Kuzin S., Paladi N., Tchernovetsky M., Isaeva E., Mazhul L., Vasychova F., Widell A., Roggendorf M. Hepatitis C virus genotypes in different regions of the former Soviet Union (Russia, Belarus, Moldova and Uzbekistan). *J. Med. Virol.*, 1997, vol. 53, no. 1, pp. 36–40.
56. Yu M.L., Chuang W.L. Treatment of chronic hepatitis C in Asia: when East meets West. *J. Gastroenterol. Hepatol.*, 2009, vol. 24, no. 3, pp. 336–345. doi: 10.1111/j.1440-1746.2009.05789.x
57. Zein N.N. Clinical significance of hepatitis C virus genotypes. *Clin. Microbiol. Rev.*, 2000, vol. 13, no. 2, pp. 223–235.

Авторы:

Семенов А.В., к.б.н., зав. лабораторией вирусологии и иммунологии ВИЧ-инфекции ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера; доцент кафедры иммунологии ГБОУ ВПО Первый Санкт-Петербургский Государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова МЗ РФ; доцент кафедры клинической лабораторной диагностики ГБОУ ВПО Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова МЗ РФ, Санкт-Петербург, Россия;

Останкова Ю.В., научный сотрудник лаборатории молекулярной иммунологии и сероэпидемиологии ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия;

Герасимова В.В., научный сотрудник учебно-научной лаборатории геномной медицины клиники медицинского института ФГАОУ ВПО Северо-Восточный федеральный университет имени М.К. Аммосова, Якутск, Республика Саха (Якутия), Россия;

Бичурина М.А., д.м.н., зав. лабораторией этиологии и контроля вирусных инфекций ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия;

Козлов А.В., д.м.н., профессор, зав. кафедрой клинической лабораторной диагностики ГБОУ ВПО Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова МЗ РФ, Санкт-Петербург, Россия;

Мукомолов С.Л., д.м.н., профессор, зав. лабораторией вирусных гепатитов ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия;

Тотolian А.А., член-корреспондент РАН, д.м.н., профессор, зав. лабораторией молекулярной иммунологии и сероэпидемиологии, ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия; зав. кафедрой иммунологии ГБОУ ВПО Первый Санкт-Петербургский Государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова МЗ РФ, Санкт-Петербург, Россия.

Authors:

Semenov A.V., PhD (Biology), Head of the Laboratory of Virology and Immunology HIV, St. Petersburg Pasteur Institute; Associate Professor, Pavlov First St. Petersburg State Medical University; Associate Professor, Department of Clinical Laboratory Diagnostics, North-West State Medical University named after I.I. Mechnikov, St. Petersburg, Russian Federation;

Ostankova Ju.V., Researcher, Laboratory of Molecular Immunology and Seroepidemiology, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation;

Gerasimova V.V., Researcher of the University Laboratory of Genome Medicine, Clinic of Medical Institute, Northeast Federal University named after M.K. Ammosov, Yakutsk, Russian Federation, Yakutsk, Russian Federation;

Bichurina M.A., PhD, MD (Medicine), Head of the Laboratory of Etiology and Control of Viral Infections St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation;

Kozlov A.V., PhD, MD (Medicine), Professor, Head of the Department of Clinical Laboratory Diagnostics North-West State Medical University named after I.I. Mechnikov, St. Petersburg, Russian Federation;

Mukomolov S.L., PhD, MD (Medicine), Professor, Head of the Laboratory of Virus Hepatitis, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation;

Totolian Areg A., Corresponding Member of RAS, PhD, MD (Medicine), Professor, Head of the Laboratory of Molecular Immunology and Seroepidemiology, St. Petersburg Pasteur Institute; Head of the Department of Immunology, Pavlov First St. Petersburg State Medical University, St. Petersburg, Russian Federation.