

На правах рукописи

**ГЕРАСИМОВА
Вилена Васильевна**

**МОЛЕКУЛЯРНО-ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА
ВИРУСОВ ГЕПАТИТОВ В И С В РЕСПУБЛИКЕ САХА (ЯКУТИЯ)**

03.02.02 – вирусология

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Санкт-Петербург — 2016

Работа выполнена в Федеральном бюджетном учреждении науки «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Пастера».

Научные руководители:

доктор медицинских наук,

Бичурина Майна Александровна

доктор медицинских наук,

профессор

Мукомолов Сергей Леонидович

Официальные оппоненты:

Михайлов Михаил Иванович – доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток имени И.И. Мечникова» (ФГБНУ «НИИВС им. И.И. Мечникова»), заведующий лабораторией вирусных гепатитов.

Дерябин Петр Григорьевич – доктор медицинских наук, профессор, Институт вирусологии имени Д.И. Ивановского Федерального государственного бюджетного учреждения «Федеральный научно-исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени Н.Ф. Гамалеи» Министерства здравоохранения Российской Федерации (Институт вирусологии им. Д.И. Ивановского ФГБУ «ФНИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России), заместитель директора по научной работе.

Ведущая организация: ФБУН «Нижегородский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. академика И.Н. Блохиной» Федеральной службы по надзору в сфере прав потребителей и благополучия человека.

Защита диссертации состоится «__»_____ 2016 года в___ часов на заседании Диссертационного совета Д 001.043.01 на базе ФГБУ «Научно-исследовательский институт гриппа» МЗ РФ (197376, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, д. 15/17), тел. (812) 499 15 04; e-mail: sovet@influenza.spb.ru

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте ФГБУ «Научно-исследовательский институт гриппа» МЗ РФ (197376, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, д. 15/17); <http://www.influenza.spb.ru>.

Автореферат разослан «__»_____ 2016 г.

Ученый секретарь Диссертационного совета Д 001.043.01,

кандидат биологических наук

Амосова Ирина Викторовна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

Вирусные гепатиты являются серьезной проблемой здравоохранения всего мира, в том числе, России и ее регионов. Это обусловлено их повсеместным распространением среди различных групп населения, разнообразием клинических форм и исходов.

Республика Саха (Якутия) относится к регионам высокого риска заболеваемости и «носительства» возбудителей гемоконтактных вирусных гепатитов с постоянным превышением аналогичных показателей по Российской Федерации в 2-3 раза (Алексеева М.Н., 2002; Зотова А.В., 2007; Семенов С.И., 2009). Актуальность данной работы заключается в необходимости получения новой и осмыслении известной информации о вирусах гепатитов В и С, циркулирующих на территории республики.

Степень разработанности темы исследования

Недостаточно сведений о гетерогенности вирусов гепатита В и С, циркулирующих на территории Республики Саха (Якутия). Исследования по этой проблеме единичны (Писарева М.М. и др., 2004, Зотова А.В., 2007, Семенов С.И. и др., 2009, Индеева Л.Д., 2010) и не дают полного представления о генотипической и субгенотипической структуре ВГВ и ВГС у пациентов с хронической формой этих заболеваний.

В Республике Саха (Якутия) независимо друг от друга отдельными группами авторов проведено определение генотипов ВГВ у пациентов с хроническими формами НВ-вирусной инфекции. В работе Зотовой А.В. определен генотип D ВГВ, циркулирующий в изолированной популяции этнических эвенков. У эвенков – коренных малочисленных народностей Севера – обнаруживается 1b генотип, у некоренного населения Нерюнгринского района установлены генотипы РНК ВГС 1b, 2a, 3a (Зотова А.В. и др., 2007).

Проведённые выборочные исследования показали, что среди якутской популяции установлено наличие трёх генотипов ВГВ: генотип А – 27,3 %, генотип D - 30,9 %, генотип С – 24,1 % и генотип ни А ни D – 17,7 %. В остальных случаях обнаружены смешанные формы генотипов А и D, а также генотипов А и С (Саввин Р.Г., 2008). На территории Республики Саха (Якутия) среди якутской популяции генотипическая гетерогенность вируса гепатита С характеризовалась преобладанием генотипов 1b и 3a (70 % и 10 %), в 19,8 % случаев генотип вируса гепатита С установить не удалось (Саввин Р.Г., 2008). Также С.И. Семенов и соавторы (Семенов С.И. и др., 2009), изучив 16 изолятов, выделенных у больных из Усть-Алданского района методом «гнездовой» ПЦР, обнаружили присутствие 3 генотипов вирусного гепатита В -А (44 %), D (44 %) и С (12 %). Проводились исследования по генотипированию вируса гепатита С: было установлено, что в Якутии основным генотипом являются 1b (68,8-76,4 %) и 3a (13,4-18,8 %) (С.И. Семенов и др., 2009). В работах Л.Д. Индеевой также определены 3 генотипа ВГВ, но с другой частотой – D (38 %), А (24 %) и С (24 %), а также в 14 % случаев выявлено сочетание генотипов А и D (Индеева Л.Д., 2010).

Кроме этого остается малоизученной распространенность вирусов гепатитов В (ВГВ) и С (ВГС), их генетические варианты на отдельных территориях республики.

Цель исследования

Определение молекулярно-эпидемиологической характеристики вирусов гепатитов В и С в Республике Саха (Якутия) в современный период.

Задачи исследования

1. Уточнить основные эпидемиологические характеристики хронических вирусных гепатитов В и С в Республике Саха (Якутия) в 1999-2014 гг.
2. Установить с помощью методов специфической лабораторной диагностики особенности распространений хронических вирусных гепатитов, вызываемых вирусами гепатитов В и С (серологические и молекулярно-генетические маркеры).
3. Изучить распространение генетических вариантов вирусов ГВ и ГС в различных регионах республики при обследовании больных хроническими формами инфекций, включая распространенность мутаций в области pre-core/core генома вируса ГВ и мутаций, приводящих к появлению устойчивости к противовирусным препаратам.
4. Осуществить филогенетический анализ выделенных изолятов вирусов ГВ и ГС и выявить особенности циркулирующих генетических вариантов возбудителей в Якутии.

Научная новизна

В результате проведенных исследований с использованием эпидемиологических и молекулярно-биологических методов получены новые данные, характеризующие степень распространенности и особенности циркуляции различных генетических вариантов возбудителей вирусных гепатитов среди населения Республики Саха (Якутия). Подтверждена циркуляция трех генотипов ВГВ в республике (А, D, С).

Впервые установлены два основных циркулирующих субтипа ВГВ (D2, D3), которые абсолютно доминируют (90 %) на различных территориях республики.

Определена частота выявления ВГВ с наличием мутаций, ассоциированных с первичной лекарственной резистентностью к нуклеозидным аналогам среди ВГВ - инфицированных лиц, не получивших противовирусной терапии.

Выявлено, что первичная резистентность изолятов ВГВ к нуклеозидным аналогам не превышает 2 % на территории РС (Я). Установлено, что большая часть обследованных больных ХГВ инфицирована генотипом D с наличием мутации в областях pre-core (РС-28) и ВСР. Обнаружена более высокая концентрация HBsAg у больных ХГВ, имеющих одновременно мутации ВСР и РС-28.

Получены сведения о распространении отдельных генотипов/субтипов вируса ГС, которые представлены субтипами 1b, 1a, 2a, 3a, 3g в разных географических зонах Республики Саха (Якутия).

Впервые в Российской Федерации выявлен изолят ВГС субтипа 3g.

Теоретическая и практическая значимость работы

Установлено, что у пациентов с хроническим гепатитом В (ХГВ) первичная резистентность к ламивудину и тенофовиру свидетельствует о циркуляции вирусов резистентных к этим препаратам.

Выявлены изоляты ВГВ несущие мутации в ВСР и РС-28, влияющие на мониторинг больных с хроническим гепатитом В.

Показано, что изоляты вирусов ГС субтипа 1b и изоляты ВГВ D2 формируют большие эпидемические цепи на территории Республики Саха (Якутия).

Внедрение в практику

1. Депонированы в международной базе Genbank (NCBI) 30 последовательностей нуклеотидов штаммов вируса гепатита В, выделенных от пациентов в Якутии (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide/>) (AccN GenBank KP165597-KP165605; KP143742-KP143745; KP 202936-KP 202945; KP 230541; KP 184495-KP 184499; KM2129571).
2. Аналитический обзор «Вирусные гепатиты в Российской Федерации», 9 выпуск / под ред. В.И. Покровского, А.Б. Жебруна. – СПб.: ФБУН НИИЭМ имени Пастера,

2013. – 168 с.

3. Молекулярная эпидемиология вирусных гепатитов: пособие для врачей / под ред. А.Б. Жебуна. – СПб.: ФБУН НИИЭМ имени Пастера, 2014. – 28 с.

Результаты исследования используются при проведении научно-практических исследований в ФГАОУ ВПО СВФУ имени М.К. Аммосова (акт о внедрении исх. № 66/071 от 29.02.2016 г.) и в педагогическом процессе на кафедре инфекционных болезней и эпидемиологии Первого Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им. акад. И.П. Павлова (акт о внедрении результатов в практику учебной, научной, лечебной работы №306 от 27.08.2015г.)

Методология и методы исследования

Методологической основой исследований послужила совокупность серологических, молекулярно-биологических и эпидемиологических методов. В ходе работы использованы клинические и лабораторные методы оценки состояния пациента.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Хронические вирусные гепатиты представляют значительную проблему для здравоохранения Республики Саха (Якутия). Распространённость хроническим гепатитом В достигает 719,0 на 100000, а хроническим гепатитом С – 569,0 на 100000 населения. У лиц старше 30 лет этот показатель (ХГВ) превышает значения 1000 и более на 100000 (1 % населения и более), а аналогичные по уровню показатели ХГС зарегистрированы у лиц старше 50 лет.
2. На территории Республики Саха (Якутия) циркулируют три генотипа вируса ГВ: А, D и С с доминированием вируса генотипа D, представленного двумя субтипами D2 и D3. Большая доля изолятов этих субтипов (71,4 %) имеют мутации в области основного промотора гена ядерного белка (BCP) и стоп кодона Р28 (pre-C/C область генома). Доля изолятов, обладающих первичной резистентностью к нуклеозидным аналогам (мутации в Р области генома), пока незначительна и составляет 2,3 %.
3. На территории Якутии циркулируют три генотипа 1, 2, 3 ВГС и пять субтипов 1a, 1b, 2a, 3a, 3g с абсолютным доминированием субтипа 1b.

Личный вклад автора в получение научных результатов

Автор на базе лаборатории вирусных гепатитов ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера лично провела исследования самостоятельно собранного материала и обработала его результаты.

Степень достоверности и апробация работы

Достоверность и обоснованность результатов работы обеспечены использованием современных средств и методов проведения исследований, значительным объемом выполненных исследований, большим массивом обработанных данных и комплексным анализом полученных результатов.

Апробация работы осуществлялась на протяжении всего периода исследования.

Результаты исследований доложены на: 1) Научно-практическом семинаре «Хронические вирусные гепатиты: современные аспекты эпидемиологии, диагностики, диспансерного наблюдения и профилактики. Внедрение регистра больных вирусными гепатитами», Якутск, 8 апреля 2013 г.; 2) V Ежегодном Всероссийском Конгрессе по инфекционным болезням, г. Москва, 25-27 марта 2013 г.; 3) Научной конференции «Молекулярная эпидемиология актуальных инфекций», посвященной 90-летию Санкт-Петербургского НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, г. Санкт-Петербург 5-7 июня 2013 г.; 4) X Российской научно-практической конференции с международным участием «Вирусные гепатиты – эпидемиология, диагностика, лечение и профилактика» Памяти члена-корреспондента РАМН Иосифа Васильевича

Шахгильдяна, 17-19 сентября 2013 г., г. Москва; 5) III научно-практической конференции с международным участием «Актуальные проблемы медицинской генетики на Крайнем Севере», 10-11 июня 2014 г., г. Якутск; 6) Научном симпозиуме Института Пастера. Париж 10-13 сентября 2014 г.; 7) VI Всероссийского научно-практической конференции молодых ученых и специалистов Роспотребнадзора «Актуальные проблемы эпидемиологии и профилактической медицины», г. Ставрополь 22-24 октября 2014 г. – 59-60 с.; 8) XI Российской конференции с международным участием «Этиология, диагностика и профилактика вирусных гепатитов», г. Москва 29-30 сентября 2015г.; 9) Конгрессе «Экология и здоровье человека на Севере», 14-16 ноября 2015г., г. Якутск.

Публикации

По данным работы опубликовано 12 научных работ, из них – 4 статьи в рецензируемых журналах ВАК Министерства образования и науки РФ и 1 статья – в международном рецензируемом журнале, а также в тезисах докладов на российских и международных конференциях.

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 142 страницах машинописного текста, состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, 3-х глав собственных исследований и обсуждения полученных результатов, заключения, выводов, практических рекомендаций и списка литературы, включающего 67 отечественных и 157 зарубежных источников. Диссертационная работа иллюстрирована 23 таблицами, 31 рисунком.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В работе обобщены результаты исследований 15-летнего периода. Для достижения поставленной цели и решения задач, исследования проводились в трех взаимосвязанных направлениях. Используемые методологии, материалы и объем проведенных исследований представлен в табл. 1.

Таблица 1

Задачи исследования	Виды и методы исследований	Материалы и объем исследований
1	2	3
Уточнить основные эпидемиологические характеристики хронических вирусных гепатитов В и С в Республике Саха (Якутия) в 1999-2014 гг.	Ретроспективный эпидемиологический анализ заболеваемости, включая анализ по половому признаку в отдельных возрастных группах населения Республики Саха (Якутия) в 1999-2014 гг.	Ежегодные и ежемесячные отчетные формы государственной статистики Министерства здравоохранения Российской Федерации «Сведения об инфекционных и паразитарных заболеваниях» (формы №№ 1, 2) за период 1999-2014 гг.; отчеты по вирусным гепатитам – 195 отчетных форм
Установить с помощью методов специфической лабораторной диагностики особенности проявлений хронических вирусных инфекций, вызванных	Лабораторные методы:	
	– Определение количественного содержания HBeAg – Выявление HBeAg и анти-HBe	– 87 образцов сывороток крови – 92 образцов сывороток крови, 184 исследования

вирусами гепатитов В и С (серологические и молекулярно-генетические маркеры)	- Выявление ДНК ВГВ и РНК ВГС в ПЦР	Клинический материал (сыворотки крови) – 1304 человека, 2608 исследований
	- Вирусная нагрузка	345 сывороток крови больных с ХГВ 249 пациентов с ХГС
Изучить распространение генетических вариантов вирусов ГВ и ГС в различных регионах республики при обследовании больных хроническими формами инфекций, включая распространенность мутаций в области пресоре/core генома вируса ГВ и мутаций, приводящих к появлению устойчивости к противовирусным препаратам	- Определение генотипа вируса ГВ (InnoLiPA)	- 20 образцов сывороток крови
	- Определение генотипа вируса ГС (ПЦР с типоспецифическими праймерами)	- 58 образцов сывороток крови
	- Мутации в областях pre- core и Р генома вируса (InnoLiPA)	- 126 образцов сывороток крови
	- Определение мутаций лекарственной устойчивости изолятов вируса ГВ (InnoLiPA)	- 79 образцов сывороток крови
Осуществить филогенетический анализ выделенных изолятов вирусов ГВ и ГС для выявления особенностей циркулирующих генетических вариантов возбудителей в Якутии	- Секвенирование изолятов вируса ГВ и филогенетический анализ	- 35 образцов сывороток крови
	- Секвенирование изолятов вируса ГС и филогенетический анализ	- 59 образцов сывороток крови

Характеристика обследованных пациентов с ХГ. Исследования проводились на территории Республики Саха (Якутия). Национальный состав населения, проживающего на территории республики, на 53 % представлен народами Крайнего Севера. Большая часть населения республики – 55 % – лица азиатского происхождения.

Сыворотки крови для исследований собирались на базах ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в РС (Я)» в каждом районе республики. Определение вирусной нагрузки, генотипа вируса, мутаций на участках генов С и Р генома ВГВ, определение вирусной нагрузки (249 пациентов ХВГС) и генотипирование осуществлялось в лаборатории вирусных гепатитов Федерального бюджетного учреждения науки «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Пастера». Были исследованы сыворотки крови 1304 больных с хроническим гепатитом, из них 819 (62,8 %) женщин и 485 (37,2 %) мужчин, средний возраст больных составил 43,2 года. Все пациенты состояли на диспансерном учете в разных районах Республики Саха (Якутия). Характеристика обследованных пациентов представлена в табл. 2.

Таблица 2

Характеристика обследованных больных по территории проживания, полу и возрасту

Районы	Женщины					Мужчины					Всего больных
	18-29 лет	30-39 лет	40-49 лет	50 и старше	Всего	18-29 лет	30-39 лет	40-49 лет	50 и старше	Всего	
Алданский	4	5	15	15	39	2	8	6	17	33	72
Амгинский	3	8	18	33	62	5	7	9	13	34	96
Булунский	1	6	8	11	26	3	2	4	2	11	37

Верхоянский	1	2	4	6	13	1	4	-	1	6	19
Вилуйский	3	9	11	47	70	5	6	3	16	30	100
Жиганский	2	4	5	10	21	-	1	5	3	9	30
Ленский	7	19	7	17	50	3	23	5	9	40	90
Мегино-Кангаласский	-	-	-	3	3	-	-	-	2	2	5
Мирнинский	7	20	13	21	61	7	19	10	3	39	100
Нерюнгринский	14	21	9	22	66	15	28	11	9	63	129
Нюрбинский	2	7	11	20	40	4	12	3	2	21	61
Сунтарский	2	2	14	51	69	5	3	9	17	34	103
Таттинский	7	9	14	21	51	5	2	2	4	13	64
Томпонский	1	6	6	12	25	1	1	3	4	9	34
Хангаласский	2	4	14	50	70	5	-	10	15	30	100
Чурапчинский	3	8	5	22	38	8	1	1	11	21	59
г. Якутск	11	23	25	56	115	12	24	19	35	90	205
РС (Я)	70	153	179	417	819	81	141	100	163	485	1304

Серологические методы. Методом иммуноферментного анализа с подтверждением (ИФА) все сыворотки исследовались на HBsAg и наличие антител к гепатиту С с помощью тест-систем производства ЗАО «Вектор-Бест» (Новосибирск). У 87 пациентов определили количественное содержание HBsAg в сыворотке крови с помощью ИФА коммерческой тест-системы производства компании Алкор Био (г. Санкт-Петербург) и у 92 человек – HBeAg и anti-HBe с помощью коммерческой тест-системы HBeAg/anti-HBe EIA (Radim, Италия). Все исследования выполнялись согласно инструкции фирм-производителей.

Молекулярно-биологические методы. Для выделения ДНК вируса гепатита В из плазмы крови человека использовали тест-систему «АмплиСенс Рибо-ПРЕП» («ИнтерЛабСервис», Москва) производства ФБУН ЦНИИЭ. Экстракция ДНК проводилась согласно инструкции производителя. Определение наличия в исследуемой пробе ДНК ВГВ и ее количественное содержание определяли с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) в коммерческих тест-системах с учетом результатов в режиме реального времени «АмплиСенсHBV-Монитор-FL» («ИнтерЛабСервис», Москва).

Из числа образцов, содержащих ДНК ВГВ, полученных от жителей из различных районов Якутии с установленным диагнозом ХГВ, определили генотип вируса, в 126 образцах – мутации в области pre-core, и в 79 образцах – мутации в области Р генома вируса с использованием тест-систем INNO-LiPA HBV Genotyping, INNO-LiPA PreCore, INNO-LiPA HBV Multi-DR (Innogenetics, Бельгия) согласно инструкции производителя.

Для выявления, количественного определения РНК и дифференциации генотипов 1/2/3 вируса гепатита С методом ПЦР в режиме реального времени применяли набор «РеалБест РНК ВГС- генотип».

Секвенирование участков генома изолятов ВГВ: для полимеразной цепной реакции (ПЦР) были использованы три пары перекрывающихся праймеров, подобранных на основе анализа опубликованных в базе данных GenBank последовательностей вируса гепатита В, совместно фланкирующих фрагмент размером 1472 п.о., включающий участок гена полимеразы (Р), а также весь ген S, в том числе участок, кодирующий непосредственно S-белок, участок, кодирующий средний S-белок (ген S, pre-S2), и участок, кодирующий большой S-белок (ген S, pre-S1, pre-S2). В работе были использованы образцы плазмы крови 35 больных с верифицированным ХГВ и 59 больных – с ХГС, полученные от коренных жителей различных поселков и городов Якутии.

Первичный сравнительный анализ полученных последовательностей проводили с помощью программы NCBI Blast. Выравнивание последовательностей и филогенетический анализ осуществляли с помощью программы MEGA 6 (UPGMA).

Статистическую достоверность совпадения кластеров на филогенетическом дереве проверяли с помощью процедуры бутстэпинга (bootstrap) на 500 повторках.

Секвенирование участка NS5b генома изолятов вируса ГС. Обратную транскрипцию проводили на неспецифичных праймерах с использованием коммерческого набора «Реверта-Л» производства ФБУН ЦНИИ. Для полимеразной цепной реакции (ПЦР) были использованы праймеры, сконструированные на основе нуклеотидной последовательности гепатита С, фланкирующие фрагмент длиной 383 п.о., включающий участок гена неструктурного белка РНК-зависимой РНК-полимеразы NS5В. Секвенирующую реакцию проводили согласно инструкции к набору Genome- LabTMDTCS – Quick Start Kit (Beckman Coulter Inc., США) в трех повторах, на прямых и обратных праймерах. Анализ фрагментов проводили на генетическом анализаторе GenomeLab GeXP. Первичный сравнительный анализ полученных последовательностей проводили с помощью программы NCBI Blast. Выравнивание последовательностей осуществляли с помощью программы MEGA5, используя алгоритм ClustalW. Для построения филогенетических деревьев использовали метод UPGMA, bootstrap N=500.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Эпидемиологические особенности гемоконтактных вирусных гепатитов в Республике Саха (Якутия). В Российской Федерации за последние 15 лет заболеваемость ХВГ выросла более чем в 2,2 раза: с 23,6 (1999 г.) до 51,7 на 100 тыс. населения (2014 г.).

В Республике Саха (Якутия) заболеваемость хроническими вирусными гепатитами с начала их регистрации (1999 г.) и до 2014 года увеличилась в 2,4 раза: с 28,3 (1999 г.) до 67,4 (2014 г.), что выше показателя (51,7) РФ на 24 %. Произошёл рост заболеваемости хроническим гепатитом С в 3,5 раза: с 11,3 (1999 г.) до 39,1 (2014 г.), хроническим гепатитом В в 1,6 раза с 15,2 (1999 г.) до 28,0 на 100 тыс. нас. (2014 г.). Показатели распространённости ХГВ в отдельных возрастных группах населения, состоящего на учете на 31.12.2013 года, были самыми высокими у больных 50- 59 лет (1197,6), 30-39 лет (1172,0), 40-49 лет (1012,2), показатель всего населения РС(Я) – 719,0 на 100 тыс. нас. У больных ХГС самые высокие показатели сместились в старшие возрастные группы: 60 лет и старше (1143,2), 50-59 лет (1012,4), 30-39 лет (919,7), показатель всего населения – 568,8 на 100 тыс. населения.

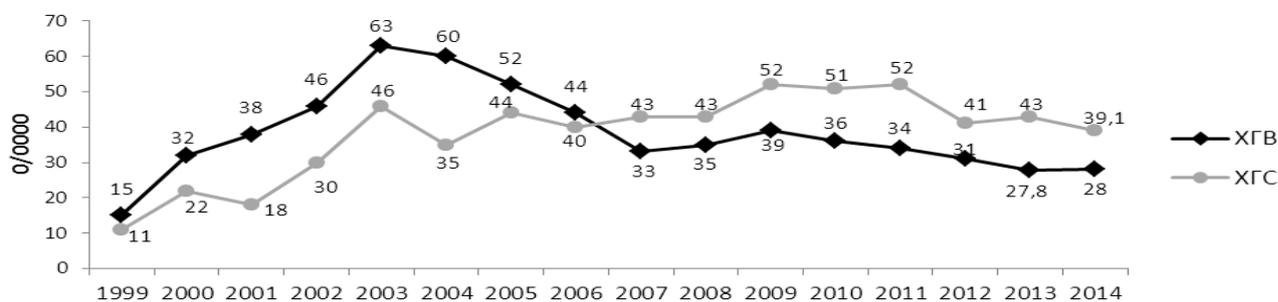


Рис. 1. Динамика заболеваемости хроническими вирусными гепатитами В и С в Республике Саха (Якутия) в 1999-2014 гг.

С 1999 до 2006 года заболеваемость хроническим гепатитом В была выше, чем хроническим гепатитом С, с 2007 года до настоящего времени число ежегодно выявляемых больных хроническим гепатитом С больше, чем больных хроническим гепатитом В (рис.1). В 2013 году в отдельных районах республики первичная

регистрация ХГВ и ХГС варьировала в широких пределах (рис. 2, 3, 4). На территории республики (40 %) заболеваемость ХГС (рис. 2) превышала заболеваемость ХГВ в районах, расположенных на юге и в центре республики, где проживает больше славянского населения, чем в других районах. На 4 территориях (14,3 %) зарегистрировано больных ХГВ больше, чем ХГС (рис. 3). В четырех районах республики, заселенных в основном коренными жителями Крайнего Севера заболеваемость ХГВ и ХГС была практически одинаковой (рис. 4). В пяти районах в 2013 году не зарегистрировано больных хроническими гепатитами (Эвено-Бытантайский, Алданский, Булунский, Усть-Майский, Жиганский).

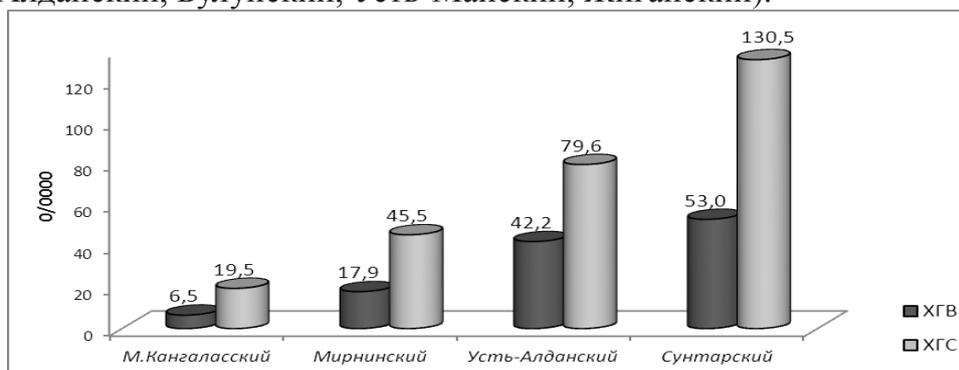


Рис. 2. Районы, в которых уровень заболеваемости ХГС выше, чем ХГВ

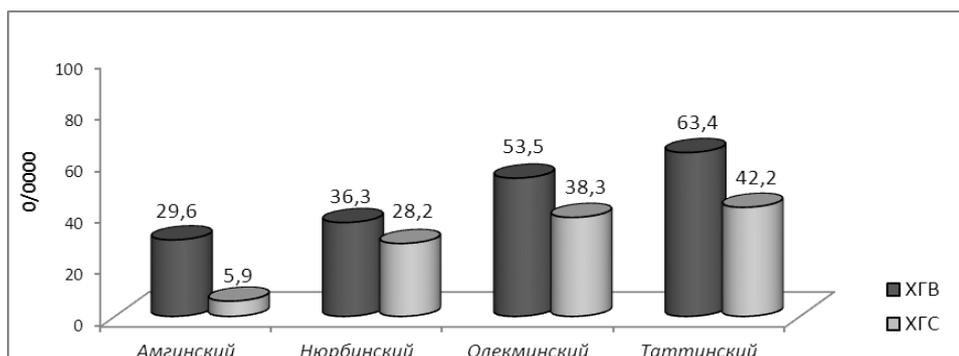


Рис. 3. Районы, в которых заболеваемость ХГВ выше, чем ХГС

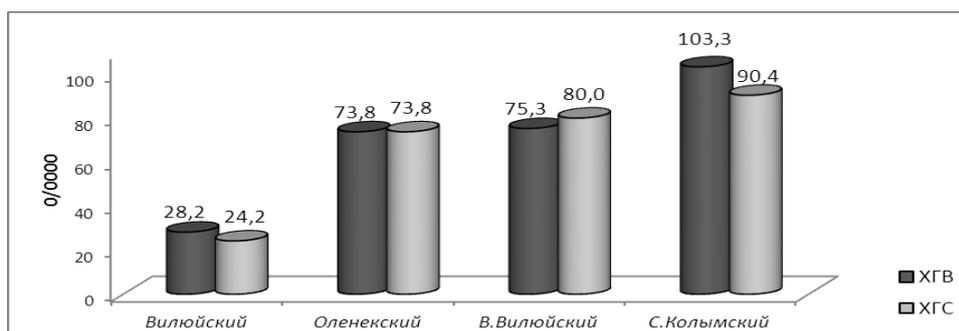


Рис. 4. Районы, в которых показатели заболеваемости ХГВ и ХГС не имеют существенных различий

Эпидемиология хронического гепатита В в Республике Саха (Якутия). В РС (Я) ХГВ в общей структуре хронических гепатитов в 2014 году составил 42 %. Показатель заболеваемости ХГВ (28,0 на 100 тыс. населения) в 2,5 раза выше, чем в Российской Федерации (11,3 на 100 тыс.). На протяжении всего анализируемого 15-летнего периода (1999-2014 гг.) заболеваемость ХГВ в РС (Я) была выше, чем в целом по стране, а в

отдельные годы (2003-2004 гг.) эта разница достигала 4-кратного различия.

В 2013 году, на (30 %) территорий заболеваемость была в пределах от 20,0 до 50,0 на 100 тыс. населения. Показатели заболеваемости от 50,0 до 100,0 на 100 тыс. зарегистрированы на 20 % территорий. В то же время в 7 районах республики первичных случаев заболевания ХГВ не зарегистрировано, а в двух улусах (Среднеколымский, Чурапчинский) зарегистрированы самые высокие показатели заболеваемости (103,3 и 150,8 на 100 тыс. соответственно). В отдельных возрастных группах взрослого населения в последние пять лет (2009- 2013 гг.) показатели заболеваемости ХГВ не имели резких различий и находились в пределах 40,0-49,0 на 100 тыс. населения, кроме группы 30-39 лет, показатель которой 51,7 на 100 тыс. оказался самым высоким.

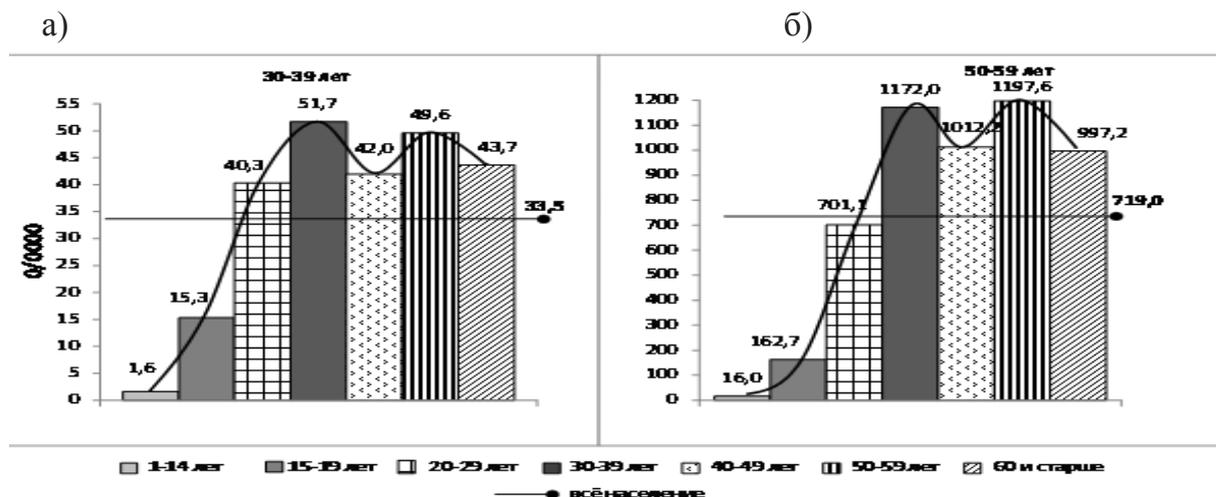


Рис. 5. Заболеваемость ХГВ (а) в отдельных возрастных группах населения в 2009-2013 гг. (средние показатели) и общее число больных ХГВ (распространённость) (б) в различных возрастных группах, состоящих на учёте на 31 декабря 2013 года в РС (Я)

Самые высокие показатели распространённости ХГ у населения республики зарегистрированы в возрастных группах 50-59 лет (1197,6 на 100 тыс.) и 30-39 лет (1172,0 на 100 тыс.) (рис. 5).

Эпидемиология хронического гепатита С в Республике Саха (Якутия). В общей структуре хронических вирусных гепатитов, зарегистрированных в РС (Я) в 2014 году, на долю хронического гепатита С приходится 58 %. Динамика заболеваемости хроническим гепатитом С в РС (Я) и РФ в 1999- 2014 гг. показывает, что с 2002 года до настоящего времени заболеваемость ХГС в Якутии была выше, в 2012 году наметилась тенденция к её снижению, и впервые за все годы наблюдения в 2014 году уровни заболеваемости ХГС в РС (Я) и РФ (39,1 на 100 тыс. населения) одинаковы.

На территориях отдельных районов республики в 2013 году показатели заболеваемости впервые выявленным ХГС существенно различаются: от отсутствия регистрации больных в северо-западных районах до очень высоких показателей в центральных районах (Чурапчинский – 184,9 на 100 тыс. населения), в западных (Сунтарский – 130,5 на 100 тыс.) и на северо-востоке РС (Я) (рис.7). Заболеваемость и распространённость ХГС в отдельных возрастных группах населения республики представлена на рис. 6. Заболеваемость впервые выявленным хроническим гепатитом С последовательно увеличивается с возрастом больных, достигая наибольшего уровня у больных старше 60 лет. Выделяется возрастная группа больных 30-39 лет, в которой средний показатель заболеваемости выше, чем у больных 40-49 и 50-59 лет. Аналогичные данные получены в отношении возрастного распределения показателей

распространённости ХГС: 60 лет и старше (1143,2), 50-59 лет (1012,4), 30-39 лет (919,7).

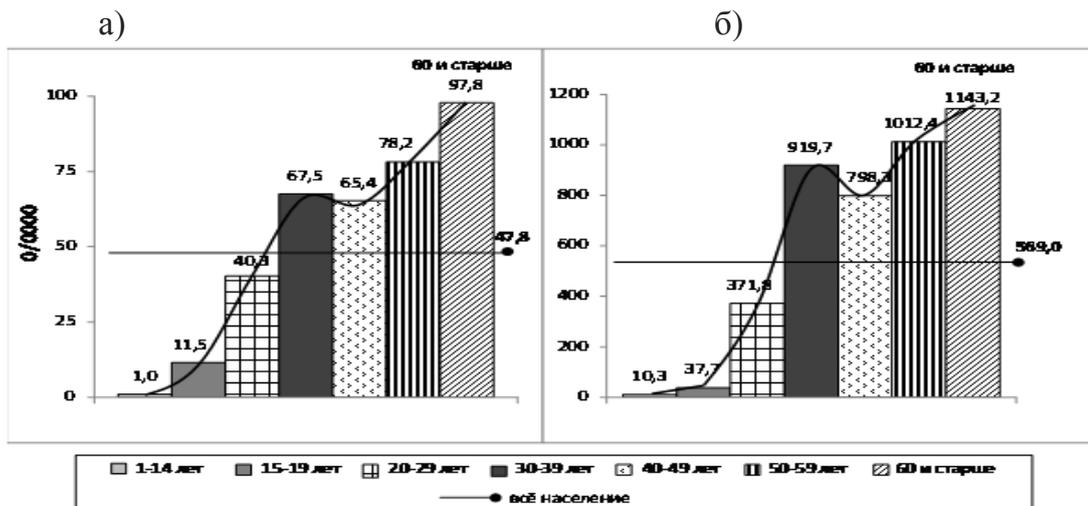
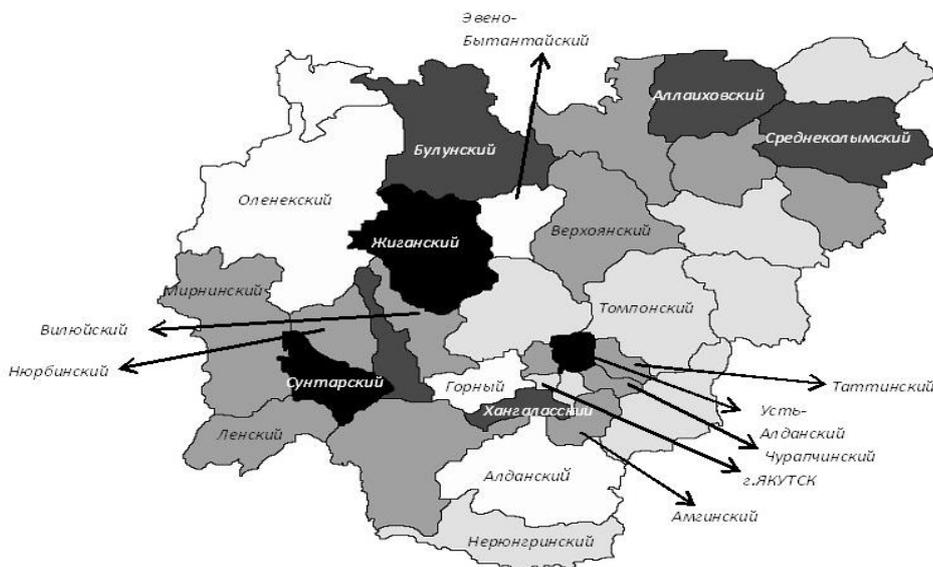


Рис. 6. Заболеваемость ХГС (а) в отдельных возрастных группах населения в 2009-2013 гг. (средние показатели) и общее число больных ХГС (б) в различных возрастных группах, состоящих на учёте на 31 декабря 2013 года в РС (Я)

На рис. 7 территория Республики Саха (Якутия) разделена на 5 групп в зависимости от показателей распространённости хроническими вирусными гепатитами (по мере нарастания показателей).



- 1. группа – от 100,0 до 499,9 на 100 тыс. нас.
- 2. группа – от 500,0 до 999,9 на 100 тыс. нас.
- 3. группа – от 1000,0 до 1999,9 на 100 тыс. нас.
- 4. группа – от 2000,0 до 2999,9 на 100 тыс. нас.
- 5. группа – больше 3000,0 на 100 тыс. нас.

Рис. 7. Распределение районов РС (Я) по группам в зависимости от показателей распространённости хроническими вирусными гепатитами по состоянию на 31.12.2013 г.

Распространённость хронических вирусных гепатитов на территории республики имеет значительные различия от самого низкого (174,8 на 100 тыс.) в Эвено-Бытантайском улусе до самого высокого (3865,6 на 100 тыс. нас.) в Усть-Алданском. Очень высокие эти показатели зарегистрированы в центральных районах республики, северо-восточной арктической зоне и в западных районах, граничащих с Красноярским краем и Иркутской областью.

Лабораторные характеристики обследованных больных ХГВ

Количественное содержание HBsAg в сыворотке крови

Таблица 3

Взаимоотношение между вирусной нагрузкой и количеством HBsAg

Вирусная нагрузка	Число пациентов		<100 МЕ/мл		100-999 МЕ/мл		>1000МЕ/мл		Средняя концентрация HBsAg (МЕ/мл)
	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%	
<150	40	46	13	32,5	23	57,3	4	10,0	261
150-10 ³	18	20,7	4	22,2	9	50	5	27,8	433
10 ³ -10 ⁴	27	31,0	8	29,6	12	44,4	7	26,0	364
10 ⁴ -10 ⁵	-		-		-		-		-
10 ⁵ -10 ⁶	2	2,3	-		1		1		554
10 ⁶ >	-		-		-		-		-
итого	87	100	25	28,7	45	51,8	17	19,5	403

У 87 пациентов определили количественное содержание HBsAg в сыворотке крови: по мере нарастания вирусной нагрузки средняя концентрация HBsAg (МЕ/мл) увеличивается пропорционально. Концентрация 100-999 МЕ/мл (57,3 %) обнаруживается при вирусной нагрузке менее 150 МЕ/мл. У 92 обследованных пациентов с геномом ВГВ «дикого типа» исследовали на HBeAg и anti-HBe: средний возраст составляет 37 лет, из них два случая HBeAg позитивные (2,2%).

Таблица 4

Распределение уровней вирусной нагрузки в зависимости от пола больных ХГВ в Республике Саха (Якутия)

Вирусная нагрузка МЕ/мл	Муж		Жен		Всего	
	п	%	п	%	п	%
<150	79	55,7±4,2	109	53,7±3,5	188	54,5±2,7
150-10 ³	22	15,5±3,0	32	15,8±2,5	54	15,7±3,8
10 ³ -10 ⁴	25	17,6±3,2	38	18,7±2,7	63	18,3±2,1
10 ⁴ -10 ⁵	8	5,6±1,9	15	7,4±1,8	23	6,7±1,3
10 ⁵ -10 ⁶	4	2,8±1,4	3	1,5±0,9	7	2,0±0,8
10 ⁶ >	4	2,8±1,4	6	3,0±1,2	10	2,9±0,9
Всего	142	100 %	203	100 %	345	100 %

Распределение уровней вирусной нагрузки у мужчин и женщин почти одинаково. У 55,7 % мужчин и 53,7 % женщин вирусная нагрузка менее 150 МЕ/мл. Вирусная нагрузка 10⁴-10⁵ у женщин выше, 10⁵-10⁶ выше у мужчин (табл. 4).

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ИЗОЛЯТОВ ВИРУСА ГЕПАТИТА В, ВЫДЕЛЕННЫХ В РАЗЛИЧНЫХ РЕГИОНАХ РЕСПУБЛИКИ САХА (ЯКУТИЯ)

Определение генотипов вируса ГВ с помощью теста Inno-LiPA. С помощью

указанного теста исследованы образцы, полученные от пациентов с подтвержденной хронической ВГВ-инфекцией, проживающих на различных территориях РС (Я). Самая большая доля (75 %) исследованных изолятов ВГВ принадлежала к генотипу D, у 15 % одновременно обнаружены смешанные генотипы A+ D. По одному изоляту (5 %) ВГВ принадлежали к генотипу A и варианту смешанных генотипов C+D. Таким образом, в образцах 20 % пациентов обнаружено одновременное присутствие двух генотипов вируса: A+D, либо C+D.

Определение мутаций в области pre-core/core генома ВГВ с помощью теста INNO-LiPA. Чаще встречается мутация в области основного промотора гена С и мутация в области стоп-кодона 28 (BCP+PC28), она составляет $37.3 \pm 4.3\%$ и распространена в категории людей старше 50 лет, вирус дикого типа – 28.6 ± 4.0 , и встречается у лиц 18-29 лет (43,5 %) и у лиц среднего возраста (37,3 %). Вирус «дикого» типа встречается чаще у мужчин 18-29 лет, у вирусов, выделенных от больных женщин, распространенной мутацией является BCP+PC-28 и составляет 50 %. У вирусов, выделенных от больных мужчин и женщин старше 50 лет наиболее распространенной мутацией является мутация в области стоп-кодона 28 (PC28). В целом независимо от возраста больных, наиболее распространенной мутацией является мутация в области стоп-кодона 28 (BCP+PC28), она составляет в среднем 37,3 % (у мужчин – 40,3 %, у женщин – 34,8 %).

Определение мутаций лекарственной устойчивости изолятов вируса ГВ с помощью теста Inno-LiPA. Нами была проанализирована частота выявления первичной лекарственной резистентности ВГВ в обследованных районах Республики Саха (Якутия). Были найдены мутации в области гена полимеразы, отвечающие за развитие лекарственной устойчивости L-173 BCP+PC codon 28 Mu в Алданском улусе и T-194 BCP+PC codon 28 Mu в Сунтарском. Полученные данные свидетельствуют о циркуляции на территории Якутии изолятов вируса ГВ, резистентных к ламивудину и тенофовиру. В обоих случаях мутации в гене полимеразы сочетались с мутациями в pre-C/C области генома.

Секвенирование изолятов вируса ГВ, выделенных от больных ХГВ из разных районов Республики Саха (Якутия), и их филогенетический анализ.

Филогенетический анализ всех нуклеотидных последовательностей изученных изолятов показал, что в большинстве случаев изоляты вируса представлены субгенотипом D2. В остальных случаях (14,3 %) изоляты принадлежали к субгенотипу D3. Изоляты группируются в крупные и более мелкие кластеры (рис. 8), что свидетельствует о том, что близкородственные вирусы вовлекались в одну эпидемическую цепь распространения ВГВ.

Достаточно большой кластер сформирован изолятами, большая часть которых выделена в Вилюйском улусе и в Таттинском улусе. Кластер изолятов, принадлежащих к субтипу D3, также сформирован образцами из Чурапчинского улуса. В этом улусе не было изолятов субтипа D2, что позволяет предполагать об определенной автономности распространения ВГВ субтипа D3 и внедрении его в циркуляцию. Следующее важное заключение, касается длительности циркуляции одного и того же изолята вируса. Например, все в том же кластере из изолятов Вилюйского улуса первые пациенты с ХГВ, вставшие на диспансерный учет, относятся к 1994–1996 гг., а последние – к 2012 г. Наиболее близкородственные изоляты субтипа D3 из Чурапчинского района выделены от пациентов, выявленных в 1984 г. (№48) и 2009 г. (№10) соответственно, что требует проведение дополнительного изучения возможных эпидемиологических связей у пациентов. Выявлено несколько групп изолятов ВГВ, которые обладают высокой степенью генетического родства, и они встречаются в различных районах республики.

Это указывает на то, что на территориях республики происходило распространение нескольких штаммов вируса одного субтипа. Естественным вопросом, который возникает при проведении филогенетического анализа изолятов, является вопрос о происхождении выявленных вирусов. Для этих целей в анализ включены и изоляты ВГВ того же самого субтипа из базы данных GenBank.

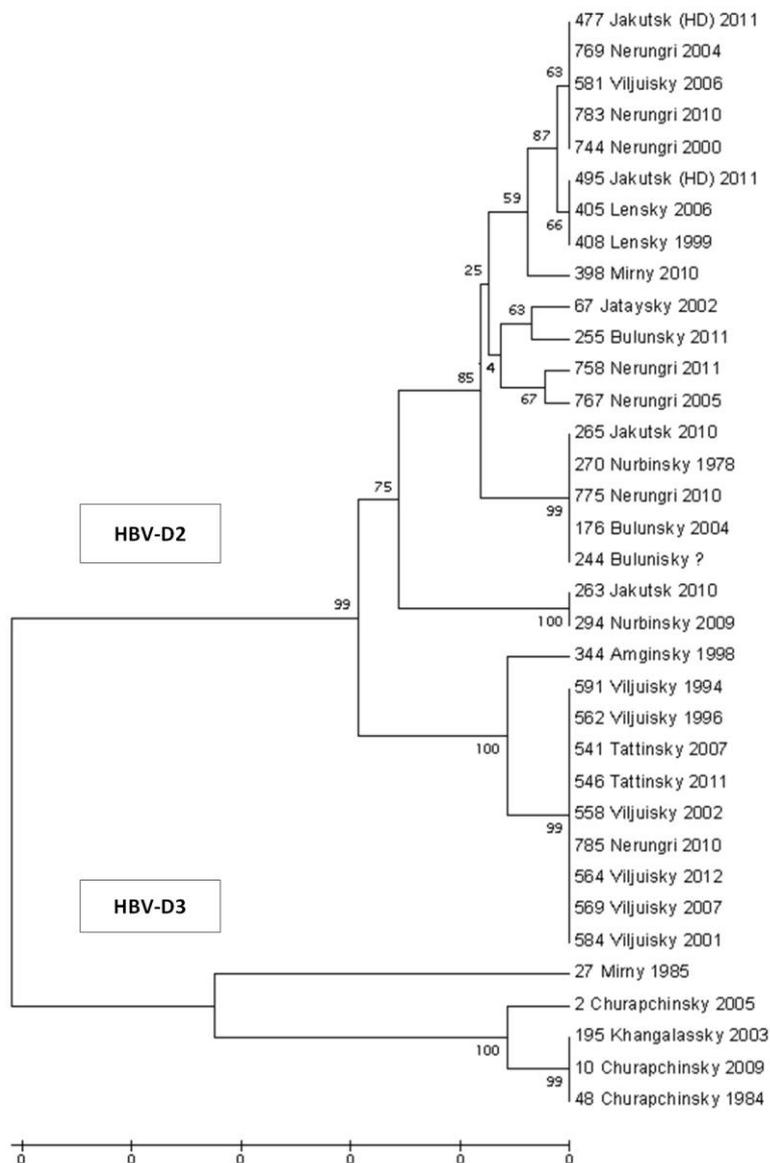


Рис. 8. Дендрограмма, полученная на основе секвенирования участков P/pre-S/S (1472 нуклеотида) изолятов ДНК ВГВ от пациентов с хроническим ГВ из Якутии.

Наиболее близкими к изолятам субтипа D2 из Вилюйского и Таттинского районов являются вирусы, выделенные ранее в Хабаровском крае и Ямало-Ненецком АО. Имеются кластеры изолятов, которые близки к вирусам этого субтипа выделенных в Эстонии (EU594413), Польше (GQ477512), Кемерово (EU594417) и Санкт-Петербурге (неопубликованные данные лаборатории вирусных гепатитов «2102 10 SPb»).

Важно отметить, что изоляты ВГВ субтипа D3, выделенные от пациентов Чурапчинского улуса и Хангаласского улуса группируются вместе и оказываются наиболее близкими к вирусу, обнаруженному ранее в Индонезии (AB644325). Кроме

этого, достаточно генетически близки к этим изолятам, вирусы выделенные ранее в Санкт-Петербурге (изолят №2096 10, неопубликованные данные лаборатории вирусных гепатитов) и изолят 2006 г. из США (JN604318).

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ИЗОЛЯТОВ ВИРУСА ГЕПАТИТА С, ВЫДЕЛЕННЫХ В РАЗЛИЧНЫХ РАЙОНАХ РЕСПУБЛИКИ САХА (ЯКУТИЯ)

Определение генотипов вируса ГС с помощью ПЦР с типоспецифическими праймерами. Генотип 1 обнаружен у 47 пациентов (81 %), генотип 2 – у 2 больных (3,5 %) и генотип 3 – у 8 (13,8 %). У одного (1,7 %) пациента были идентифицированы два генотипа (1+3) одновременно. Подобное распределение генотипов с абсолютным доминированием генотипа 1 было примерно одинаковым у мужчин и женщин. При анализе выявляемости отдельных генотипов вируса ГС в различных возрастных группах установлено, что с наибольшей частотой во всех группах определялся генотип 1 – от 57,1 % в возрастной группе 30–39 лет до 90,9 % – в группе 40–49 лет. Обе находки генотипа 2 были обнаружены у лиц старше 40 лет, а большинство случаев генотипа 3 (6 из 8) были выявлены у лиц моложе 40 лет. В итоге, если всех обследованных объединить в две возрастные группы до 40 лет и старше 40 лет, то обнаруживается достаточно четкая тенденция к большей частоте генотипов 1 и 2 у лиц старше 40 лет и относительно высокая частота генотипа 3 у лиц моложе 40 лет.

Территориальное распределение выявленных на обследованных территориях генотипов демонстрируют превалирование генотипа 1 ВГС, за исключением Томпонского района, в котором обнаружены пациенты, инфицированные вторым генотипом вируса. Находки генотипа 3 обнаружены, в основном, в Южной части Якутии (Алданский, Ленский, Нерюнгринский улусы и г. Мирный), а также в г. Якутске и в Томпонском районе. Пациент, инфицированный одновременно вирусами двух генотипов 1+3, выявлен в Амгинском районе.

Секвенирование изолятов вируса ГС, выделенных от больных ХГС из разных районов Республики Саха (Якутия), и их филогенетический анализ

Изоляты вируса были выделены в 16 различных улусах и городах республики. Взаимоотношение выделенных изолятов между собой в пределах республики показано на филогенетическом дереве (рис.9). Согласно филогенетическому анализу, выделенные изоляты вируса ГС относились к трем генотипам (ВГС-1, ВГС-2, ВГС-3) и пяти субтипам (1a, 1b, 2a, 3a, 3g) - рис.10.

В структуре выделенных субтипов вируса ГС доминировали изоляты, относящиеся к субтипу 1b (53 изолята – 88,1 %). Другие выявленные субтипы: субтип 1a – 1,7 %, 2a – 6,8 %, 3a – 1,7 %, 3g – 1,7 %. Важно отметить, что впервые на территории России у пациента, получающего лечение гемодиализом в г. Якутске, выявлен субтип вируса ГС 3g, циркуляция которого ранее выявлена учеными в Великобритании (больной из Пакистана) и Северной Америке. У 22 больных в возрасте до 40 лет выделены изоляты вируса только субтипа 1b, а у 37 больных старше 40 лет определялись изоляты субтипов 1a, 2a, 3a, 3g. На этой же дендрограмме приводятся данные о больных, состоящих на диспансерном учете. Видно, что близкородственные изоляты вируса ГС определялись у пациентов, выявленных в широкий интервал времени: в 1973 г. с диагнозом «ни А ни В» (изолят № 14, г. Мирный), 1977 г. (изолят №239, Амгинский улус) и в 2011 г. (изоляты № 144, Верхоянский улус, № 347, Ленский улус и еще 12 изолятов разных субтипов). В связи с этим особый интерес представляет определение местоположения указанных штаммов на филогенетическом дереве при их сравнении с изолятами, выделенными в разных странах мира. Такое

сравнение позволяет предполагать об импортировании штаммов вируса ГС на территорию республики.

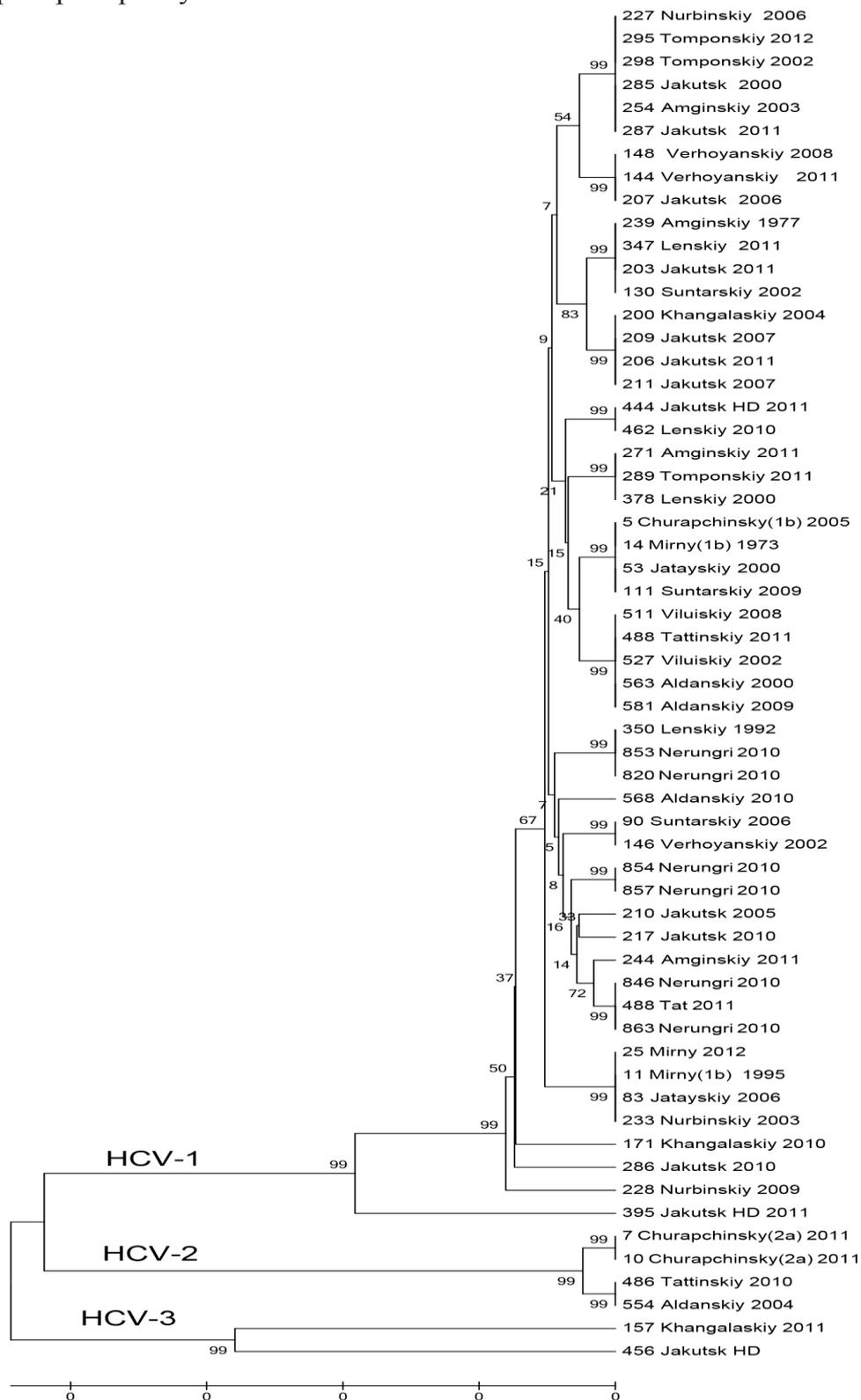


Рис. 9. Дендрограмма, полученная на основе секвенирования участков NS5b (377 нуклеотида) изолятов РНК ВГС от пациентов с хроническим гепатитом С из Якутии. Указаны номера изолятов и их территориальное происхождение и год постановки пациента на диспансерный учет (выявления хронического гепатита)

На дендрограмме рис. 10. представлены изоляты, выделенные в Якутии и в других странах. Обращают на себя внимание две большие группы изолятов из Якутии, которые группируются вместе и не перемешиваются на дереве с изолятами из других стран. Это может говорить о существовании, по крайней мере, двух эпидемических цепей связанных между собой случаев ГС на разных территориях Республики Саха (Якутия) в 1992 - 2011 г.г. На дендрограмме они показаны фигурными скобками. Эти штаммы вируса ГС циркулировали прежде и возможно продолжают циркулировать на обширных пространствах Республики Саха (Якутия).

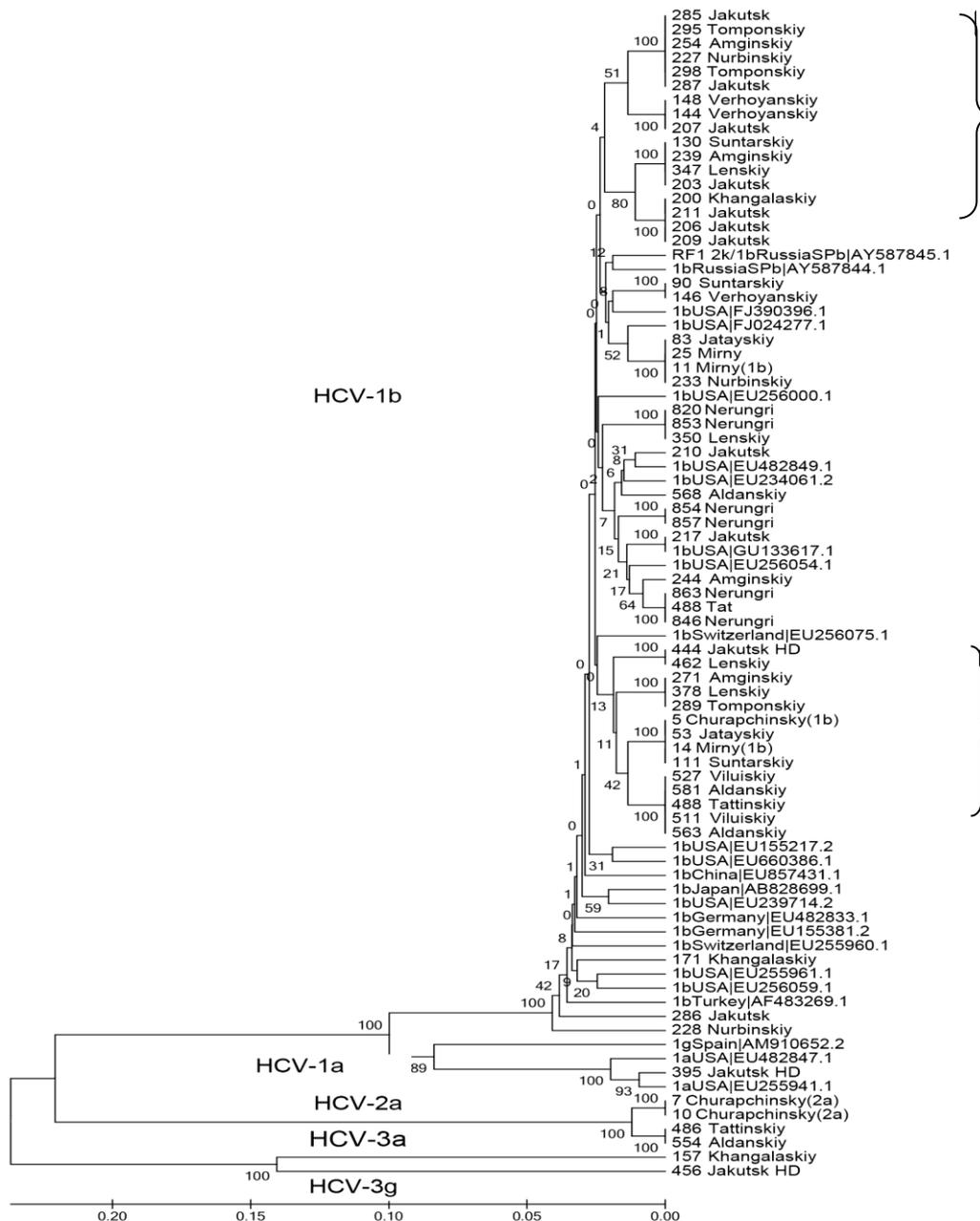


Рис. 10. Дендрограмма, полученная на основе секвенирования участков NS5b (377 нуклеотида) изолятов РНК ВГС от пациентов с хроническим гепатитом С из Якутии и референтных изолятов субтипа 1b из базы данных GenBank. Указаны номера изолятов и их территориальное происхождение.

Наряду с этим, на филогенетическом дереве видны и другие связанные между собой изоляты вируса ГС субтипа 1b, которые также группирующиеся вместе, но отличаются от изолятов, сформировавших вышеописанную эпидемическую цепь. Как правило, эти более мелкие кластеры включают и изоляты, выделенные в других странах, в основном, в США и Японии. Например, изоляты, выделенные в 2013 году в Нерюнгри (№ 857, 854, 853, 820), близкородственны изоляту, выделявшемуся в США (EU482849) еще в 1989 г. Изолят №171 от пациента из Хангаласского улуса наиболее близок к изолятам, выделенным в Германии в 2003 и 2004 гг., а также в США в 2005 г. Изоляты №286 из Якутска и 228 из Нюрбинского района также не группировались с другими изолятами из Якутии, что свидетельствует о возможном существовании других эпидемических цепей распространения вируса субтипа 1b. Единственный изолят субтипа 1a был выделен от больного, получающего лечение гемодиализом в г Якутске (изолят №395).

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 позволяет предположить общий источник инфекции, несмотря на территориальное деление. На рис. 11 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 субтип 2a, найденными в Китае. Учитывая обширные торгово-экономические связи Якутии со странами Восточной Азии, можно предполагать импортное происхождение указанных изолятов. Важно отметить, что вирусы субтипа 2a, в отличие от субтипа 1b, не получили широкого распространения на территории Якутии.

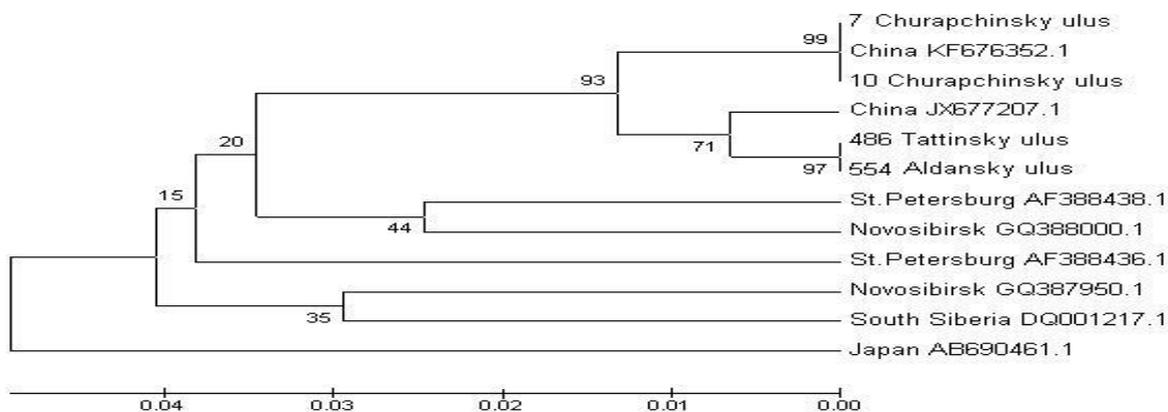


Рис.11. Дендрограмма, характеризующая филогенетические отношения изолятов ВГС субтипа 2a выделенных от пациентов с ХВГС из разных регионов Якутии в сравнении с представленными в международной базе данных последовательностями максимально идентичных штаммов ВГС из РФ, Китая и Японии.

В нашей работе выявлено только два изолята генотипа 3. Изолят №157, выделенный в Хангаласском районе, оказался наиболее близким к изолятам субтипа 3a, ранее обнаруженным в Индии, Китае и Пакистане (рис.12).

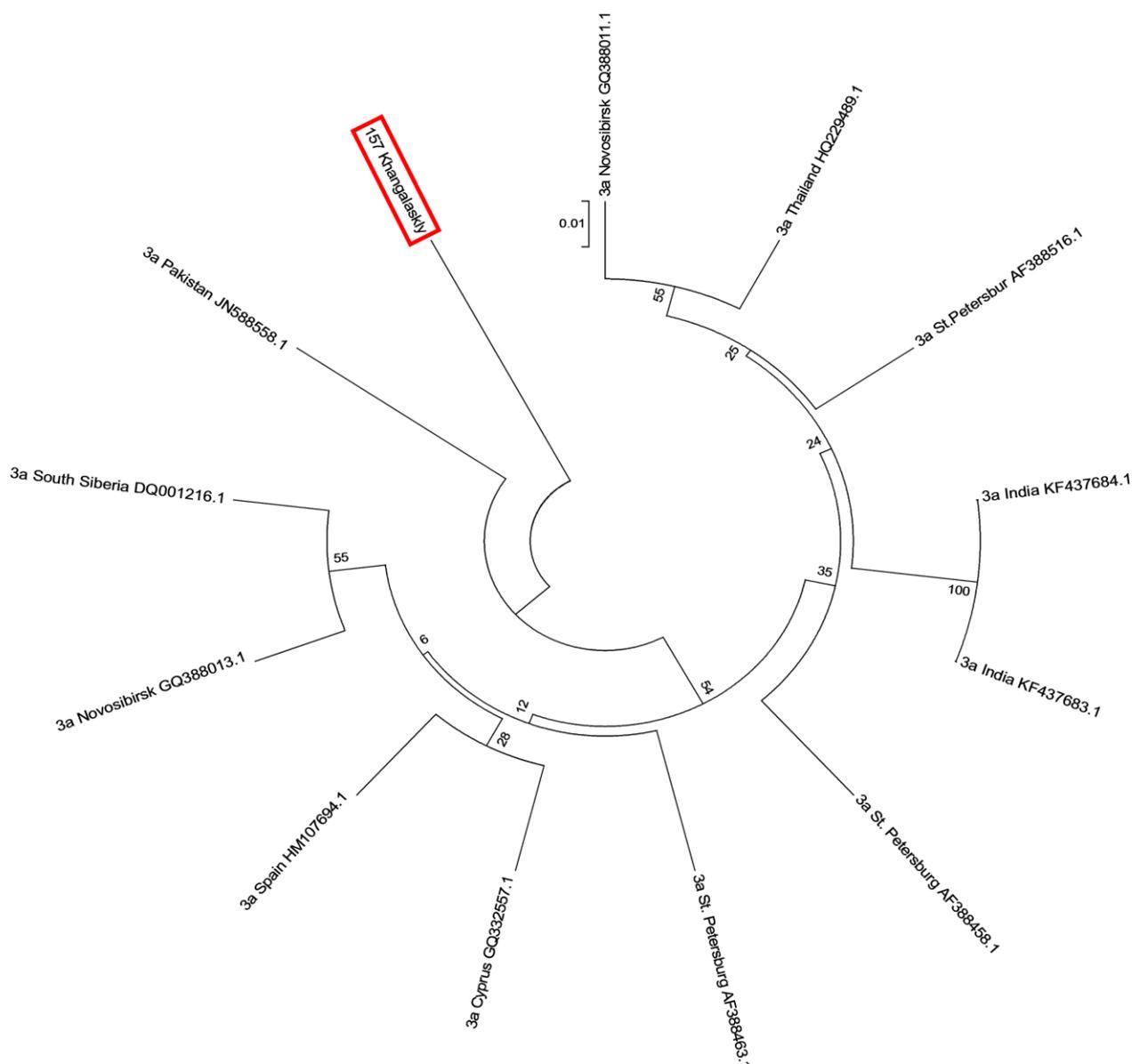


Рис.12. Дендрограмма, характеризующая филогенетические отношения изолята ВГС субтипа 3а выделенного от пациента с ХВГС из Хангаласского региона Якутии в сравнении с представленными в международной базе данных Genbank последовательностями максимально идентичных штаммов ВГС из РФ и других стран.

Особенно интересным нам представляется впервые выявленный на территории РФ ВГС субтип 3g. Хочется отметить, что выбранная нами для генотипирования область NS5B охватывает достаточно обширный фрагмент срединного гипервариабельного 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. 13).

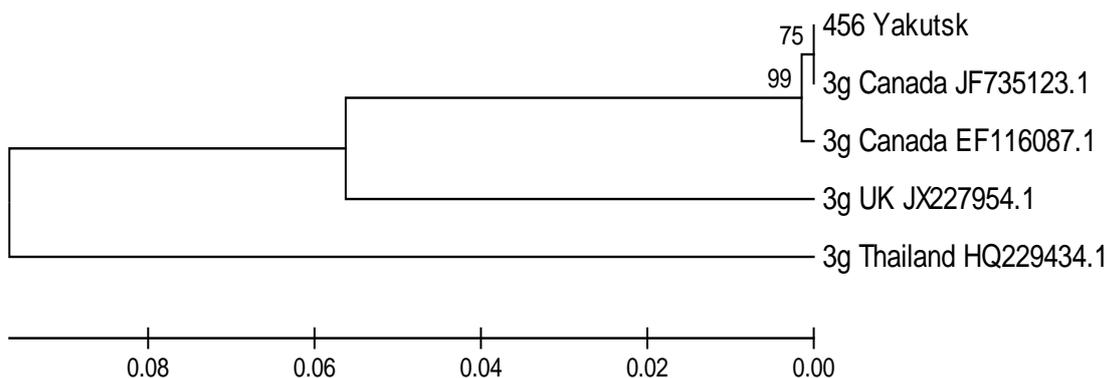


Рис.13. Дендрограмма, характеризующая филогенетические отношения изолята ВГС субтипа 3g, выделенного от пациента с ХВГС из Якутска в сравнении с представленными в международной базе данных Genbank последовательностями максимально идентичных штаммов ВГС из РФ и других стран.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

Учитывая эпидемиологическую значимость хронических вирусных гепатитов, можно предложить следующие рекомендации:

- продолжить повсеместное, особенно в отдалённых районах республики, скрининговое обследование населения на маркеры гемоконтактных вирусных гепатитов, в первую очередь, из групп риска;
- шире использовать молекулярно-генетические методы, что позволит:

- а) выявлять преимущественную циркуляцию определённых генотипов вирусов В и С в разных социальных группах населения и на различных территориях;
- б) раскрывать причины формирования очагов этих инфекций в эпидемически значимых учреждениях, особенно, занятых оказанием медицинских услуг;
- в) расширить информационную базу существующего регистра больных с диагностированными хроническими вирусными гепатитами.

Результаты, полученные в процессе работы, позволяют рекомендовать для использования в клинической практике алгоритм выявления мутаций в Р-гене полимеразы ВГВ, ассоциированных с развитием лекарственной устойчивости, который позволит оптимизировать выбор противовирусного препарата.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате исследований, выполненных в ходе работы над диссертацией, получены новые научные знания о структуре популяций вирусов гепатита В и гепатита С, циркулирующих в Республике Саха (Якутия), впервые определены спектры субтипов указанных вирусов по республике в целом и в разрезе административных территорий, впервые охарактеризована частота мутаций в геноме ВГВ, включая мутации, ассоциированные с резистентностью к противовирусной терапии. Полученные сведения могут быть использованы, при контроле за дальнейшей динамикой популяций вирусов гепатитов В и С, слежении за экспортом-импортом их генетических вариантов, выявлении источников, факторов и путей передачи указанных вирусов при осуществлении мероприятий эпидемиологического надзора.

ВЫВОДЫ

1. Хронические вирусные гепатиты представляют значительную проблему для здравоохранения Республики Саха (Якутия). Распространённость хроническим гепатитом В достигает 719,0 на 100000, а хроническим гепатитом С – 569,0 на 100000 населения. У лиц старше 30 лет этот показатель (ХГВ) превышает значения 1000 и более на 100000 (1% населения и более), а аналогичные по уровню показатели ХГС зарегистрированы у лиц старше 50 лет.
2. У пациентов с хроническим гепатитом В в Якутии выявлялись низкая или умеренная вирусная нагрузка, низкая частота HBeAg (2,2 %), с умеренным значением содержания HBsAg (в среднем 403 МЕ/мл), изоляты с высокой частотой (71,4 %) мутаций в области pre-C/C генома.
3. Первичная резистентность изолятов вируса гепатита В, выявленных в двух районах, к аналогам нуклеозидов составила 2,3 %, они выявлены в гене Р в позиции А194Т (устойчивость к тенофовиру) и V173L (устойчивость к ламивудину).
4. Молекулярно-гибридизационный анализ изолятов вируса гепатита В показал наличие трех генотипов вируса – А, D и С в соотношении 20 %, 75 % и 5 %. Секвенирование изолятов вируса из различных регионов Республики Саха (Якутия) в областях Р, pre-S/S генома выявило только один генотип вируса D, представленный двумя субтипами D2 - 86% и D3 - 14 % соответственно. При этом близкородственные вирусы циркулировали на всех изученных территориях Республики Саха (Якутия).
5. По данным ПЦР с типоспецифическими праймерами, в Якутии циркулируют вирусы ГС трех генотипов 1, 2, 3: 81 %, 3,5 % и 15,5 % соответственно. Секвенирование области NS5b генома изолятов вируса, выделенных от больных ХГС, позволило установить 5 различных субтипов вируса 1a, 1b, 2a, 3a и 3g с абсолютным доминированием изолятов вируса субтипа 1b (89 %). У 60 % больных ХГС с высокой вирусной нагрузкой (10*6 МЕ/мл) выделялся субтип 1b.

СПИСОК ОСНОВНЫХ РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Аналитический обзор:

1. Вирусные гепатиты в Российской Федерации, 9 выпуск / Под ред. В.И. Покровского, А.Б.Жебруна – Спб.: ФБУН НИИЭМ имени Пастера, 2013. –168с.

Статьи:

2. Герасимова, В.В. Молекулярная эпидемиология вируса гепатита В в Якутии / В.В. Герасимова, Н.Р. Максимова, И.А. Левакова, С.Л. Мукомолов // **Якутский медицинский журнал.** – 2014. – №3(47). – С.54-57.

3. Мукомолов, С.Л. Молекулярная эпидемиология гепатита С в центрах гемодиализа в Санкт-Петербурге / С.Л. Мукомолов, Т. Tallo., Е.В. Синайская, П.Н. Кислый, Г.Ф. Трифонова, В.В. Герасимова, Н. Norder // **Журнал Микробиологии эпидемиологии и иммунобиологии.** – 2014. – №6. – С.27-34.

4. Герасимова, В.В. Молекулярно-эпидемиологические особенности вирусного гепатита В / В.В. Герасимова, И.А. Левакова, М.А. Бичурина, Н.Р. Максимова // **Инфекция и иммунитет.** – 2015. – Т 5 (№4). – С. 297-302.

5. Герасимова, В.В. Эпидемиологические особенности хронического вирусного гепатита В и С в Республике Саха (Якутия) / В.В. Герасимова, Н.Р. Максимова, И.А. Левакова, А.Б. Жебрун, С.Л. Мукомолов // **Wiadomosci Lekarskie**. – 2015. – TLXIII (№4) С. 502-507.

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

Тезисы:

7. Герасимова, В.В. Частота выявления маркеров парентеральных вирусных гепатитов в республике Саха (Якутия) в 2007-2011гг. / В.В. Герасимова, Н.Р. Максимова, С.Л. Мукомолов // **Инфекция и иммунитет**. –2012. – Т.2 (№1-2). – С. 437.

8. Мукомолов, С.Л. Молекулярно-эпидемиологические исследования вирусных гепатитов: 15-летний опыт лаборатории вирусных гепатитов Санкт-Петербургского НИИЭМ имени Пастера. / С.Л. Мукомолов, Н.В. Железнова, Е.В. Синайская, В.В. Герасимова, А.Ю. Грибанов // **Инфекция и иммунитет**. – Т 3 (№2). – С. 155.

9. Герасимова, В.В. Молекулярно-генетические характеристики возбудителей у больных с различными формами хронической инфекции, вызванной вирусом гепатита В, в Республике Саха (Якутия) / В.В. Герасимова, Е.В. Синайская, С.Л. Мукомолов. // **Инфекционные болезни**. – 2013, Т 11. –С. 101.

10. Герасимова, В.В. Молекулярно-генетическая характеристика вируса гепатита В в Республике Саха (Якутия) / В.В. Герасимова, Н.Р. Максимова, И.А. Левакова, С.Л. Мукомолов // **Материалы III научно-практической конференции с международным участием «Актуальные проблемы медицинской генетики на Крайнем Севере»**, Якутск. – 2014. – С.10.

11. Останкова, Ю.В. Молекулярно-эпидемиологические особенности вируса гепатита В в республике Якутия / Ю.В. Останкова, А.В. Семенов, С.Л. Мукомолов, В.В. Герасимова // **Материалы VI Всероссийского научно-практической конференции молодых ученых и специалистов Роспотребнадзора «Актуальные проблемы эпидемиологии и профилактической медицины»**, Ставрополь. – 2014. – С. 59-60.

12. Молекулярная эпидемиология вирусных гепатитов / Пособие для врачей. Под ред. А.Б. Жебруна. // СПб.: ФБУН НИИЭМ имени Пастера, 2014. – 28с.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

анти-НВс IgG – антитела к ядерному антигену вируса гепатита В класса Jg G

анти-НВс IgM – антитела к ядерному антигену вируса гепатита В класса JgM

анти-НВе – антитела к антигену вируса гепатита В

анти-НВs – антитела к поверхностному антигену вируса гепатита В

анти-ВГС – антитела к вирусу гепатита С

анти-ВГD – антитела к вирусу гепатита D

ВГВ – вирус гепатита В

ВГС – вирус гепатита С

ВГD – вирус гепатита D

ВОЗ – Всемирная организация здравоохранения

ГЦК – гепатоцеллюлярная карцинома

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота

ИФА – иммуноферментный анализ

ИОТ – ингибиторы обратной транскриптазы
ОТ-ПЦР – обратная транскрипция – полимеразная цепная реакция 5'-
НТО – 5'-нетранслируемая область
ПЦР – полимеразная цепная реакция
РНК – рибонуклеиновая кислота
РС (Я) – Республика Саха (Якутия)
РФ – Российская Федерация
ХГ – хронический гепатит
ХГВ – хронический гепатит В
ХГС – хронический гепатит С
ЦП – цирроз печени
HBeAg – антиген е вируса гепатита В
HBsAg – поверхностный антиген вируса гепатита В

Большую признательность автор выражает научным руководителям - профессору, д.м.н. **Сергею Леонидовичу Мукомолу** и д.м.н. **Майне Александровне Бичуриной** за подробное конструктивное обсуждение полученных результатов.

Благодарит за активную помощь в исследованиях, результатом которых явилась данная работа, сотрудников ФБУН «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Пастера»: зав. отделением диагностики и профилактики гепатитов **Левакову Ирину Александровну**, зав. лабораторией вирусологии и иммунологии ВИЧ-инфекций к.б.н. **Семенова Александра Владимировича**, научного сотрудника лаборатории молекулярной иммунологии и сероэпидемиологии **Останкову Юлию Владимировну**.

Искренне признательна за плодотворное сотрудничество сотрудникам следующих учреждений:

1. Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Северо-Восточный федеральный университет имени М.К. Аммосова».
2. Управления Роспотребнадзора по Республике Саха (Якутия).

Благодарит за оказанную помощь и всестороннюю поддержку заведующую учебно-научной лабораторией «Геномная медицина» Клиники МИ ФГАОУ ВО СВФУ им. М.К. Аммосова Минобрнауки д.м.н., профессора **Надежду Романовну Максимову**.