

ИДЕНТИФИКАЦИЯ ШТАММОВ ВИРУСА ГЕПАТИТА А ДЛЯ ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИХ РАССЛЕДОВАНИЙ

Неверов А.Д., Карандашова И.В., Браславская С.И., Чуланов В.П.

ФГУН Центральный НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва, Россия

Введение

Острый гепатит А является заболеванием высокой социальной значимости, так как у взрослых и подростков в большинстве случаев протекает в средне-тяжелой и тяжелой формах. Заболеваемость вирусным гепатитом А (ВГА) в высокой степени связана с уровнем социально-экономического развития страны и с обеспеченностью населения качественной питьевой водой. Изношенность водопроводной сети часто приводит к контаминации питьевой воды канализационными стоками, что приводит к вспышкам кишечных инфекций, в том числе ВГА. Внедрение молекулярно-биологических методов в эпидемиологию призвано повысить эффективность расследования вспышек ВГА и выявлять завозные случаи инфекции.

Целью работы являлась разработка методологии выявления штаммов вируса гепатита А (HAV) при расследовании вспышек ВГА и выявления источников инфекции, а так же для исследования филогенетической структуры популяции.

Материалы и методы

Нами были исследованы изоляты вируса, вызывавших спорадические случаи заболевания ВГА из различных регионов России, Киргизии и Таджикистана (179) и вспышечных случаев заболевания в 2005-2006 годах в России (80). Для определения штаммов проводилось секвенирование двух вариабельных фрагментов генома - маркерных последовательностей (МП) вируса: VP1/P2B длиной 410 нуклеотидов и 2С длиной 648 нуклеотидов. Филогенетический анализ штаммов осуществлялся методом Minimum Evolution модель TN93 (MEGA 3.1), статистическая значимость филогении оценивалась методом bootstrap (1000 повторов). Зашумленность данных для филогенетического анализа оценивалось методом likelihood mapping (TREE-PUZZLE).

Результаты

Изоляты, выделенные во время вспышек, были секвенированы по региону VP1/P2B или по двум МП одновременно: в Тверской области в 2005 году – 34, Нижнем Новгороде в 2005 – 67 и Северодвинске в 2006 году – 17. Подавляющее большинство последовательностей вспышечных изолятов были идентичны между собой по паре МП. Мутантные последовательности отличались от преобладающих вариантов не более чем одной заменой. Во время вспышки в Н. Новгороде было обнаружено две группы идентичных изолятов, что отличает эту вспышку от двух дру-

гих. В среднем, во время вспышек обнаруживался один мутантный изолят из 10 изолятов идентичных по паре МП. На основании уникальных пар МП 160 спорадических изолятов был проведен филогенетический анализ. Мы сравнили структуру двух деревьев - построенного только по последовательностям региона VP1/P2B и паре МП. Оба дерева обладали близкой структурой, хотя филогенетический шум увеличивался по отношению к дереву, построенному по паре последовательностей с 7,3% до 18,6%. Секвенирование региона 2С позволило различить изоляты, которые были идентичны по VP1/P2B. Так как вирус гепатита А обладает высокой генетической стабильностью, изоляты, идентичные по паре МП, обнаруживались во время спорадической заболеваемости в различных регионах России.

Заключение

При расследовании вспышек ВГА целесообразно проводить секвенирование двух МП изолятов вируса. Идентичность пары МП двух изолятов позволяет отнести их к одному штамму, допускается наличие единственной мутации в паре МП, не встречавшейся у какого-либо другого штамма. Секвенирование региона 2С позволяет различать изоляты, идентичные по региону VP1/P2B. При спорадической заболеваемости для исследования популяции циркулирующих штаммов достаточно проводить секвенирование региона VP1/P2B.