

*Землянский В. А., Дедюля К. Л., Поклонская Н. В., Богуш З. Ф.,
Амвросьева Т. В.*

ГЕНОТИПИЧЕСКИЙ СОСТАВ ЦИРКУЛИРУЮЩИХ НА ТЕРРИТОРИИ БЕЛАРУСИ ВК ВИРУСОВ

*Республиканский научно-практический центр эпидемиологии
и микробиологии, г. Минск, Беларусь*

ВК вирус — патогенный для человека представитель рода Полиомавирус. Более 80 % населения ВК-серопозитивны [1]. Первичная инфекция протекает бессимптомно, может сопровождаться слабыми респираторными проявлениями [1, 2]. Основной мишенью персистентной ВК инфекции являются клетки почек и мочевыводящих путей. У пациентов с иммунодефицитом реактивация ВК-вирусной инфекции может приводить к почечной дисфункции в виде полиомавирус-ассоциированной нефропатии (ПВАН) у реципиентов после трансплантации почки или к геморрагическому циститу у реципиентов после трансплантации костного мозга [3, 4].

ВК вирусы разделяются на 4 субтипа (I–IV) согласно нуклеотидной вариабельности гена капсидного белка VP1. Субтип I широко распространен во всех регионах мира, тогда как субтип IV является менее распро-

страненным, а субтипы II и III еще более редки. При этом субтип I делится на 4 субгруппы (Ia, Ib-1, Ib-2 и Ic), а субтип IV — на 6 (IV/a-1, IV/a-2, IV/b-1, IV/b-2, IV/c-1 и IV/c-2) [5].

Несмотря на активную работу по генотипированию ВК вирусов за рубежом, генотипический пейзаж циркулирующих на территории Республики Беларусь ВК вирусов до начала настоящих исследований не изучался.

Данная работа посвящена генотипированию ВК вирусов, идентифицированных в клиническом материале белорусских реципиентов почки и гемопоэтических стволовых клеток (ГСК) с клиническими признаками нефропатии.

Материалы и методы

Исследовано 22 образца мочи, полученных из РНПЦ трансплантации органов и тканей на базе УЗ «9-я городская клиническая больница» г. Минска (11 образцов) и РНПЦ детской онкологии, гематологии и иммунологии (11 образцов).

Образцы мочи перед выделением нуклеиновых кислот разводили транспортной средой для проб клинического материала в соотношении 1 : 1 («Амплисенс», Россия). Для выделения вирусных нуклеиновых кислот из образцов мочи применяли коммерческий набор «РИБО-сорб» («Амплисенс», Россия) в соответствии с инструкцией производителя.

Для накопления участков гена VP1 ВК вирусов длиной 434 пар нуклеотидов использовали праймеры PoE1s и PoE2as [6].

Секвенирование участков ДНК проводили методом терминации цепи на ДНК-анализаторе CEQ8000 с использованием набора DTCS Quick Start Kit (BECKMAN COULTER). Поиск гомологичных последовательностей осуществляли в базе данных NCBI (BLAST) [7]. Для выравнивания полученных последовательностей использовали алгоритм ClustalW, bp программного пакета MEGA6 [8]. Полученные выравнивания были откорректированы вручную. Для построения филогенетического дерева использовали метод максимального правдоподобия, модель K2+G (Kimura 2-parameter model). Достоверность значений генетических расстояний (стандартную ошибку) и топологии филогенетических древ оценивали методом псевдо-реплик (bootstrap-test).

Результаты и обсуждение

Результаты проведенного молекулярного типирования и филогенетического анализа клинического материала реципиентов почки и ГСК (n = 22) свидетельствуют о циркуляции на территории Республики Беларусь генотипов ВК вирусов, принадлежащих к субгруппам Ib-2 и IVc (рис.).

Значения бутстреп-теста позволяют судить о статистической достоверности полученных результатов.

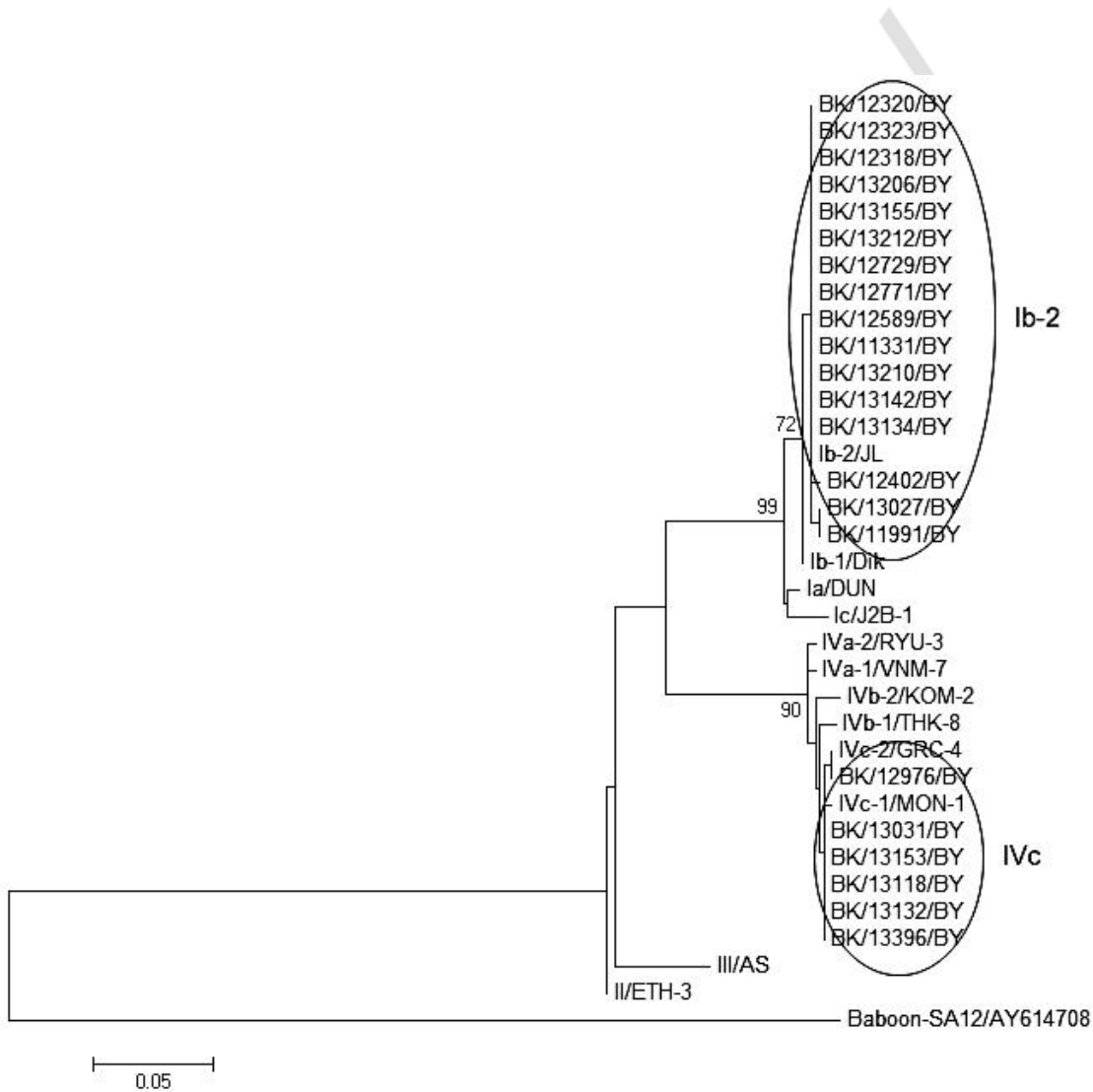


Рис. Филогенетическое древо, построенное на основании фрагмента гена VP1 ВК вируса. Цифры в узлах древа — значения бутстреп-теста

Анализ последовательностей в программе BLAST показал, что наиболее близкими к исследуемым полиомавирусам были штаммы, выделенные в Испании (2012), Франции (2010) и Германии (2012).

ЛИТЕРАТУРА

1. *Population-based study of antibody to the human polyomaviruses BKV and JCv and the simian polyomavirus SV40* / W. A. Knowles [et al.] // J. Med. Virol. 2003. Vol. 71. P. 115–123.
2. *Hirsch, H. H. Polyomavirus BK* / H. H. Hirsch, J. Steiger // Lancet Infect Dis. 2003. Vol. 3. P. 611–623.
3. *Reploeg, M. D. BK virus : a clinical review* / M. D. Reploeg, G. A. Storch, D. B. Clifford // Clin Infect Dis. 2001. Vol. 33. P. 191–202.
4. *Easha, S. Human polyomaviruses: Molecular and clinical epidemiology* / S. Easha, K. Manleyb, M. Gasparovicb // Cell. Mol. Life Sci. 2006. Vol. 63. P. 865–876.
5. *Distribution patterns of BK polyomavirus (BKV) subtypes and subgroups in American, European and Asian populations suggest co-migration of BKV and the human race* / S. Zhong [et al.] // Journal of General Virology. 2009. Vol. 90. P. 144–152.

6. *Chehadeh, W.* Genotypic diversity of polyomaviruses circulating among kidney transplant recipients in Kuwait / W. Chehadeh, M. R. Nampoory // *J. Med. Virol.* 2013. Vol. 85. P. 1624–1631.

7. *Basic* local alignment search tool / S. Altschul [et al.] // *J. Mol. Biol.* 1990. Vol. 215. P. 403–410.

8. *MEGA5* : Molecular Evolutionary Genetics Analysis using Maximum Likelihood, Evolutionary Distance, and Maximum Parsimony Methods / Tamura [et al.] // *Mol. Biol. Evol.* 2011. Vol. 28, N 10. P. 2731–2739.

***Zemlianski V. A., Dziadziulia K. L., Paklonskaya N. V., Bogush Z. F.,
Amvrosieva T. V.***

Genotyping of BK viruses

The study presents the results of phylogenetic analysis of BK viruses isolated from patients in Republic of Belarus. Described isolates belong to subgroups Ib-2 and IVc.