

# Динамика распространения генетических вариантов вируса SARS-CoV-2, циркулирующих на территории Республики Беларусь

<sup>1</sup>Булда К.Ю., <sup>1</sup>Гасич Е.Л., <sup>1</sup>Кабанькова А.Н., <sup>1</sup>Коско А.Д., <sup>2</sup>Валентович Л.Н., <sup>2</sup>Охремчук А.Э.

<sup>1</sup>Государственное учреждение «Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии»

<sup>2</sup>Государственное научное учреждение «Институт микробиологии Национальной академии наук Беларуси»

## Актуальность

Глобальный мониторинг изменений генетической структуры вируса SARS-CoV-2 и связанных с ними эпидемиологическими данными является важным компонентом реагирования на течении пандемии COVID-19, позволяющим установить, как пространственно-временные особенности распространения вируса, так и степень его эволюции. Это необходимо для идентификации новых вариантов вируса, разработки диагностических тест-систем, поиска противовирусных препаратов и создание вакцин, лечебных препаратов на основе моноклональных антител, оценки эффективности специфического иммунного ответа, приобретённого в результате перенесенного заболевания и/или вакцинации. Варианты с более высокой трансмиссивностью, патогенностью и вызывающие более тяжелое течение заболевания, согласно определению Всемирной организации здравоохранения, выделены в отдельную группу – варианты, вызывающие «обеспокоенность» (ВВО). К ним относятся Альфа («Британский» B.1.1.7), Бета («Южноафриканский» B.1.351), («Бразильский» P.1), Дельта («Индийский» B.1.617.2) и Омикрон (B.1.1.529). Новые варианты оказывают потенциальное воздействие на эффективность диагностических тест-систем, иммунный ответ и эффективность нейтрализации противовирусных антител. В Республике Беларусь на 14 июня 2022 года насчитывается 983000 случаев COVID-19. Начиная с осени 2020 года начато секвенирование геномов вируса SARS-CoV-2, результаты которого дали возможность понимания особенностей распространения вируса на территории страны.

## Цель исследования

Установить динамику и Беларусь в 2020-2021 гг. на основе анализа частичного секвенирования S участка и полногеномного секвенирования генома вируса.

## Материалы и методы

В результате частичной амплификации S участка генома вируса получен ПЦР-продукт размером 1067 п.н. (участок с 22 476 п.н по 23 543 п.н.). Секвенирование было выполнено с использованием генетического анализатора AppliedBiosystems (США). Анализ нуклеотидных последовательностей осуществляли с использованием программных продуктов Sequencing Analysis Software v.6, BioEdit v7.0.9.0, SeqScape v.3.

Для амплификации вируса и получения библиотек использовали протокол праймеров ARTIC V3 ([https://github.com/artic-network/artic-ncov2019/blob/master/primer\\_schemes/nCoV-2019/V3/SARS-CoV-2.primer.bed](https://github.com/artic-network/artic-ncov2019/blob/master/primer_schemes/nCoV-2019/V3/SARS-CoV-2.primer.bed)). Полногеномное секвенирование выполнено на приборе Oxford Nanopore (Великобритания). Анализ и сборка данных полногеномного секвенирования производилась с помощью пайплайна Kromsatel (<https://github.com/masikol/kromsatel>). Полученная после секвенирования нуклеотидная последовательность вируса SARS-CoV-2 в формате fasta загружается на электронный ресурс <https://www.gisaid.org/epiflu-applications/covsurver-mutations-app/>, где выдается результат по мутациям в участках генома вируса SARS-CoV-2, что позволяет в последствии определить вариант.

Исследуемая выборка образцов ДНК варибельного участка генома (S участок) вариантов вируса SARS-CoV-2 составила 435 образцов назофарингеальных мазков с подтверждённым COVID-19 за период июнь – декабрь 2021 года. Географическое распределение образцов имеет следующую картину: по 73 (16,78±1,8%) образцов из Гомельской и Гродненской областей; 62 (14,25±1,7%) проживающих на территории Минской области; 59 (13,56±1,6%) Витебской области; 57 (13,10±1,6%) из Брестской и Могилевской областей; 54 (12,41±1,6%) из Минска.

Исследуемая выборка для получения полногеномных последовательностей вируса SARS-CoV-2 была отобрана по следующим критериям: высокая концентрация вируса в образце, а также временной диапазон 2020-2021 год и составила 32 образца. Географическое распределение пациентов имеет следующую картину: по 2 (6,25±4,3%) образца проживающих на территории Гомельской и Гродненской; по 4 (14,25%±1,7%) образца, проживающих на территории Брестской и Витебской областях; 13 (40,63±8,7%) из Минской области и 7 (21,88±7,3%) из Минска.

## Результаты

Как показали результаты полногеномного секвенирования, до конца февраля 2021 года в стране были распространены преимущественно варианты, относящиеся сублиниям B.1 (n= 3), B.1.1 (n=4) и B.1.164 (n=4), выявленных на территории Минской области в мае-июне 2020 года. В результате частичных нуклеотидных последовательностей S участка генома вируса SARS-CoV-2, в феврале 2021 года впервые был установлен случай инфицирования, связанный с вариантом Альфа (B.1.1.7), который был подтверждён методом полногеномного секвенирования. Также в период февраль – апрель 2021 года были выявлены следующие варианты SARS-CoV-2: C.36.3 в Гродненской области, B.1.466 в Витебской области, варианты B.1.525 и B.1.1.374 в городе Минске. В целом, в стране до мая 2021 года отмечалось доминирование варианта Альфа (рисунок 1).

## Контакты

Булда Кирилл Юрьевич, мл.н.с.

Государственное учреждение «Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии», 220114, г. Минск, ул. Филимонова 23

Email: buldakyworks@mai.com, Телефон: +375 (29) 303-18-84

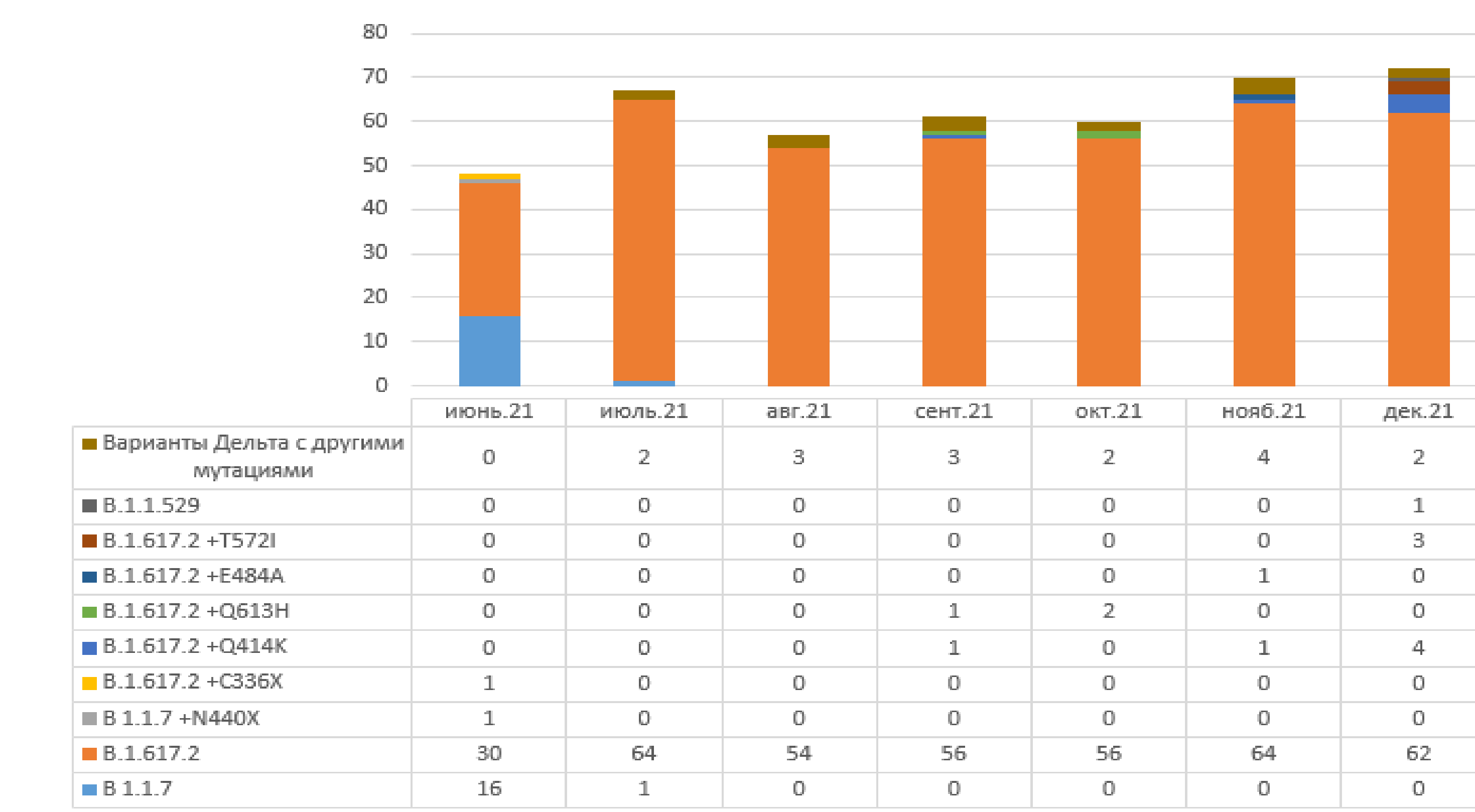


Рисунок 1 Генетическое разнообразие вариантов вируса SARS-CoV-2 в период июнь-декабрь 2021 г.

В мае 2021 года установлены первые случаи завоза на территорию страны варианта Дельта (B.1.617.2), который в дальнейшем заместил вариант Альфа. В целом в стране доля варианта Альфа в июне составила 35,42±6,9%, в дальнейшем его представленность во всех регионах страны снизилась к середине июля до 1,49%. Напротив, отмечалось увеличение генетической гетерогенности S участка генома вируса, замещение исходной линии B.1.617.2 ее сублиниями – B.1.617.2+AY. Так, в нашем исследовании только в 30 секвенированных образцах (7,21±1,3%, n=416) были выявлены аминокислотные замены. Среди них были следующие: S514F, A570S, A575S, S371X, D427G, D568N, E484A, E583D, F490S, L585F, Q414K, Q498N, Q613H, S459F, S477I, T470I, T527I, N354S. Наиболее встречаемым вариантами Дельта с мутациями оказались B.1.617.2 +Q414K – 20,00±7,36% (n=6), B.1.617.2 +T572I – 10,00±5,5%(n=3), B.1.617.2 +Q613H – 10,00±5,5% (n=3) образцов соответственно (рисунок 2). Результаты полногеномного секвенирования и дальнейшего биоинформационного анализа позволили установить циркуляцию следующих сублиний варианта дельта в период сентябрь – октябрь 2021 года: 14 образцов AY.122 (n=14), полученных практически из всех регионов страны. Учитывая, что данный вариант являлся преобладающим на территории Российской Федерации, можно утверждать, что его появление в Республике Беларусь связано с завозом с территории России. Были выявлены в Брестской области и г. Минске варианты AY.4 и AY.127 соответственно. В конце декабря 2021 года впервые был обнаружен вариант Омикрон (B.1.1.529) в образцах из Минска, который молниеносно практически в течение месяца заместил вариант Дельта.

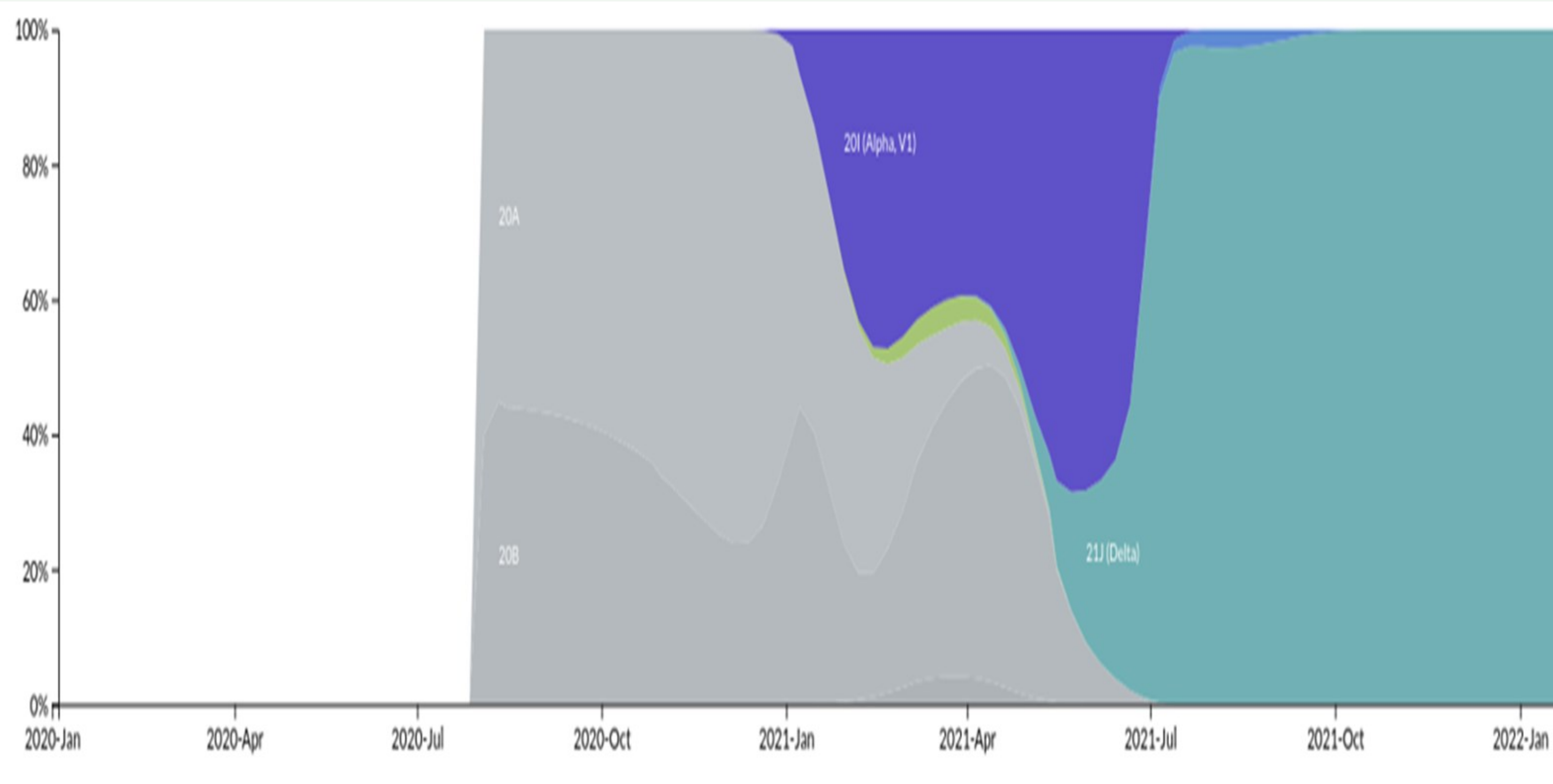


Рисунок 2 Динамика генетических вариантов вируса SARS-COV-2 на территории РБ в период пандемии COVID-19

## Выводы

- В Республике Беларусь выявлены варианты вируса, вызывающие «обеспокоенность» согласно классификации ВОЗ – варианты Альфа, Дельта и Омикрон.
- Установлена динамика распространения вариантов Альфа, Дельта и Омикрон, свидетельствующая о быстрой замене ранее циркулировавших вариантов новыми, имеющими пандемическое распространение.
- Показано, что в стране в период с сентября по декабрь 2021 года в стране преобладала сублиния варианта Дельта AY.122, наиболее распространенная на территории Российской Федерации.