

К ВОПРОСУ О МОЛЕКУЛЯРНОЙ ЭПИДЕМИОЛОГИИ ГЕПАТИТА В В РЕСПУБЛИКЕ САХА (ЯКУТИЯ)

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

¹ Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия

² Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия

³ Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова, Санкт-Петербург, Россия

⁴ Северо-Восточный федеральный университет им. М.К. Аммосова, Якутск, Россия

For the question about Molecular Epidemiology of Hepatitis B Virus Infection in the Republic Sakha (Yakutia)

A.V. Semenov^{1,2,3}, Yu.V. Ostankova¹, V.V. Gerasimova⁴, M.A. Bichurina¹, S.L. Mukomolov^{1,2},
A.A. Totolian^{1,2}

¹ Saint-Petersburg Science Research Institute of Epidemiology and Microbiology named after Pasteur, Saint Petersburg, Russia

² First Saint-Petersburg State Medical University named after acad. I.P. Pavlov, Saint Petersburg, Russia

³ North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, Saint Petersburg, Russia

⁴ North-Eastern Federal University named after M.K. Ammosov, Yakutsk, Russia

Резюме

Цель: оценить распространенность генетических вариантов и особенности молекулярной эпидемиологии вируса гепатита В (ВГВ) у жителей Якутии с диагнозом «Хронический вирусный гепатит В (ХВГВ)».

Материалы и методы: обследовано 35 пациентов с хроническим вирусным гепатитом В из городских и сельских районов республики Саха, при этом большую часть группы составили представители автохтонного населения. В настоящем исследовании мы применили генотипирование на основе прямого секвенирования Pre-S1/Pre-S2/S области ДНК ВГВ.

Результаты: на основании филогенетического анализа изолятов показано, что среди обследованных больных ХВГВ выявлен только генотип D, являющийся наиболее распространенным генотипом ВГВ в РФ. При этом показано преобладание ВГВ субтипа D2 (85,8 %) по сравнению с ВГВ субтипа D3 (14,2 %).

Заключение: выявленные нами четко кластеризующиеся группы изолятов ВГВ и тесные связи внутри групп говорят о существовании как минимум четырех постоянных источников инфицирования, действующих на протяжении нескольких лет и десятилетий. Систематическое применение комплекса молекулярных, вирусологических, эпидемиологических методов и молекулярной филогенетики дает дополнительную клиническую информацию, способствует углублению понимания особенностей эпидемического процесса по ВГВ, а также совершенствованию системы эпидемиологического надзора.

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

Abstract

Objective: To estimate the prevalence of genetic variants and features of the molecular epidemiology of HBV in Yakutia residents suffering from HBV.

Materials and methods: The study involved 35 patients with chronic hepatitis B from urban and rural areas of Yakutia while most of the group were representatives of the autochthonous population. In the present study we used genotyping by direct sequencing of the Pre-S1 / Pre-S2 / S region of HBV DNA.

Results: Based on the phylogenetic analysis of the isolates showed that among patients examined HBV identified only D genotype, which is the most common genotype of HBV in the Russian Federation. It is shown prevalence of HBV subtype D2 (85,8 %) compared to the HBV subtype D3 (14,2 %).

Conclusion: We identified clearly clustered group of HBV isolates and close ties within the group, which suggests the existence of at least four permanent sources of infection, acting for a few years and decades. The systematic application of complex molecular, virological, epidemiological methods and molecular phylogenetics could contribute to the current understanding of the epidemiology of HBV and improve the quality of the traditional methods of supervision in Russia.

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

Введение

Инфицирование вирусом гепатита В (ВГВ) остается серьезной проблемой всемирного здравоохранения. ВГВ является одним из наиболее распространенных гепатотропных вирусов, вызывающих хронические заболевания печени. Хотя введение в клиническую практику в промышленно развитых странах эффективной вакцины значительно снизило распространенность вируса и, соответственно, его влияние на здоровье и экономику, по оценкам ВОЗ, число контактировавших с ВГВ в мире составляет почти 2 млрд человек. Хронический вирусный гепатит В (ХВГВ) обнаружен более чем у 240 млн из них [1]. ХВГВ является одной из причин тяжелых заболеваний печени, к которым относятся цирроз и гепатоцеллюлярная карцинома. Каждый год в мире от заболеваний печени, вызванных ВГВ, умирают более 650 000 человек [2]. ВГВ широко распространен и является эндемичным для многих территорий. Различные регионы мира демонстрируют высокую распространенность ВГВ (>8%) в странах Африки и Азии и низкую распространенность (<2%) в странах Европы и Северной Америки.

К наиболее частым путям заражения ВГВ относятся: передача при половом контакте, перинатальная, антенатальная и постнатальная передача от матери ребенку, заражение при переливании крови и случайное инфицирование в медицинских учреждениях, распространение среди пользователей инъекционных наркотиков. В Азии и большинстве стран Африки, эндемичных по ВГВ, заражение происходит преимущественно в перинатальном периоде или в детстве [3].

Клинические проявления ХВГВ многообразны и зависят в основном от биологических свойств вируса и его взаимодействия с иммунной системой хозяина. Однако длительность заболевания, уровень вирусной нагрузки и его изменения с течением времени, мутации вируса, экологические и генетические факторы, этническая принадлежность и пол пациента могут влиять на течение заболевания.

На основании филогенетического анализа ВГВ подразделяют на десять генотипов, распространенных в различных географических регионах мира. Генотипы ВГВ отличаются друг от друга по составу нуклеотидных последовательностей более чем на 8% и подразделяются на 34 субтипа, для которых показано расхождение полных нуклеотидных последовательностей в 4–7,5% [4].

Показано, что генотип ВГВ не только является предиктором клинического исхода инфекции, но и связан с ответом на терапию. Так, например, генотипы А и В более чувствительны к лечению интерфероном, чем генотипы D и С. Генотип D ассо-

циирован с HBeAg отрицательным ХВГВ, а также с высокими темпами развития цирроза. Другим фактором, значимым для развития заболевания, вирусного ответа на терапию, влияющим на длительность лечения, является вирусная нагрузка. Показано, что высокая вирусная нагрузка является основным фактором риска для развития гепатоцеллюлярной карциномы и допускает более высокую вероятность рецидива гепатита после трансплантации печени [5].

Определение генотипов и субтипов ВГВ важно для лучшего понимания особенностей заболевания, а также предоставляет дополнительную информацию для принятия решения о выборе тактики противовирусной терапии.

Известно, что на большинстве территорий бывшего СССР и в странах Балтийского региона преобладает ВГВ субтипа D2, также выявлен субтип A2 и в единичных случаях D3 [6]. Анализ генотипов ВГВ в Таджикистане также показал преобладание генотипа D (94,1%) по сравнению с генотипом А (5,8%) [7]. ВГВ генотипа D также преобладал в Узбекистане (87%), генотип А встречался в Узбекистане с частотой 13% [8].

Несмотря на наличие целого ряда работ, посвященных генотипированию ВГВ на различных территориях России и сопредельных государств, до сих пор нет полного генотипического картирования изолятов ВГВ, выделяемых на территории СНГ и стран бывшего СССР. Так, было показано, что в Северо-Западном регионе РФ преобладает генотип D, в то время как генотип А встречается с частотой 4–17% (Санкт-Петербург) и 20% (Петрозаводск), что, тем не менее, превышает частоту встречаемости данного генотипа в Западной Сибири и предположительно является следствием географической близости и исторических связей региона с прибалтийскими странами, для которых показано широкое распространение ВГВ генотипа А [9, 10].

Как было отмечено выше, данные о распределении генотипов ВГВ для некоторых субъектов Российской Федерации весьма ограничены, особенно это касается сельских регионов, Северной Сибири, Дальнего Востока, полярных регионов. Одним из таких регионов с высокой распространенностью гепатита В является Якутия.

В настоящее время для определения генотипа ВГВ используются: серотипирование ВГВ, типоспецифическая ПЦР, гибридизация продуктов амплификации с адсорбированными геноспецифическими зондами (INNO-LiPA), ПДРФ-генотипирование и др.

Прямое секвенирование нуклеотидной последовательности является стандартом классификации ВГВ генотипов и субгенотипов, при этом для анализа используется либо полный геном вируса, либо область S-гена [11].

В настоящем исследовании мы применили генотипирование на основе прямого секвенирования Pre-S1/Pre-S2/S области ДНК ВГВ.

Цель исследования — оценить распространенность генетических вариантов и особенности молекулярной эпидемиологии ВГВ у жителей Якутии с диагнозом ХВГВ.

Материалы и методы

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

Материалом исследования служила плазма крови 35 пациентов с ХВГВ из разных регионов Республики Саха (Якутия). Все пациенты соответствуют следующим критериям: наличие HBsAg, HBcIgG, определяемый уровень ДНК ВГВ методом количественной ПЦР (>500 МЕ/мл) на протяжении по крайней мере 6 месяцев перед забором материала, отсутствие ВИЧ и/или ВГС-коинфекции, возраст при регистрации ХВГВ старше 18 лет. Исследуемая группа включала 15 мужчин и 20 женщин в возрасте от 18 до 60 лет. Представлены национальности: 13 европеоидов и 22 представителя автохтонного населения (19 саха, 3 эвенка).

Образцы были получены из 12 различных городов и сельских районов республики (Нюрбинский, Ленский, Таттинский, Чурапчинский, Булунский, Хангаласский, Амгинский, Вилюйский регионы; г. Якутск, г. Жатай, г. Мирный, г. Нерюнгри).

Выделение ДНК ВГВ, амплификацию, секвенирующую реакцию, очищение полученных продуктов и оценку качества матрицы в общем виде проводили согласно ранее упоминавшимся методам [12]. В работе были использованы перекрывающиеся пары праймеров, совместно фланкирующие регион протяженностью 1475 пар оснований (п.о.), включающий рекомендованную для генотипирования ВГВ область Pre-S1/Pre-S2/S протяженностью 1169 п.о. с 2848-3182 . . . 1-835 нт., согласно представленному в международной базе данных GenBank изоляту Mart-B47 (HE974377.1) [13].

Первичный анализ полученных фрагментов 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 5.0, используя алгоритм ClustalW [14]. Для построения филогенетических деревьев использовали метод UPGMA, bootstrap N = 500 [15].

Результаты и обсуждение

Для всех 35 образцов была получена нуклеотидная последовательность Pre-S1/Pre-S2/S региона, пригодная для дальнейшего анализа.

Полученные фрагменты проанализированы, все 35 нуклеотидных последовательностей депонированы в международную базу данных GenBank под номерами: KM212957.1, KP143742.1 — KP143744.1, KP165597.1 — KP165605.1, KP184495.1 — KP184499.1, KP202936.1 — KP202945.1, P230541.1.

Для всех образцов были определены генотип и субтип. На основании филогенетического анализа изолятов показано, что среди обследованных больных ХВГВ выявлен только генотип D, являющийся наиболее распространенным генотипом ВГВ в РФ. При этом показано преобладание ВГВ субтипа D2 (85,8%) по сравнению с ВГВ субтипа D3 (14,2%). Показано, что половая принадлежность не является значимым фактором для распределения генотипов ВГВ в Якутии.

Распределение генотипов ВГВ в географических регионах Республики Саха (Якутия), а также по половому и национальному признакам в нашем исследовании представлено на рисунке 1.

Ранее было показано, что частота встречаемости ВГВ генотипа D в России может достигать 93% [16, 17], однако эти данные и полученные нами результаты отличаются от выявленной в Якутии высокой частоты встречаемости трех генотипов ВГВ (D — 42,4%, A — 25,4% и C — 25,4%) по данным других исследовательских групп [10, 18, 19, 20]. Тем не менее, при анализе распространенности гепатита В среди коренного населения Якутии был выявлен только ВГВ генотипа D [21]. Также почти 100% преобладание ВГВ генотипа D было показано среди коренного населения Сибири [22]. Следует отметить, что эти исследования проводили преимущественно с использованием методов серотипирования ВГВ или с применением метода ПЦР-ПДРФ с типоспецифическими праймерами. Возможной причиной противоречия полученных нами данных с результатами иных исследований является то, что ранее опубликованные данные о распространенности в Якутии трех генотипов ВГВ были получены в результате обследования пациентов преимущественно некоренного населения, в то время как исследуемая нами группа представлена пациентами из городских и сельских районов Республики Саха (Якутии), охватывающих значительную часть территории субъекта РФ, при этом большую часть группы составляют представители автохтонного населения.

Обнаружение ВГВ преимущественно субтипа D2 коррелирует с данными о высокой распространенности генотипа D субтипа D2 по всей терри-

тории России. При анализе последовательностей группы изолятов субтипа D2 процент идентичности нуклеотидов был высоким и составил $99 \pm 0,2\%$, что совпадает с данными других авторов [6]. Несмотря на широкий временной спектр даты постановки диагноза ХВГВ (1994–2012 гг.), мы обнаружили низкую степень гетерогенности проанализированных штаммов ВГВ. Анализ данных о

времени постановки диагноза ХВГВ показал, что целый ряд представленных изолятов ВГВ циркулируют в различных районах Якутии на протяжении нескольких десятилетий.

Несмотря на высокую идентичность нуклеотидной последовательности, общая группа изолятов подразделяется на кластеры, в пределах которых идентичность нуклеотидной последовательности составляет 100% (рис. 2).

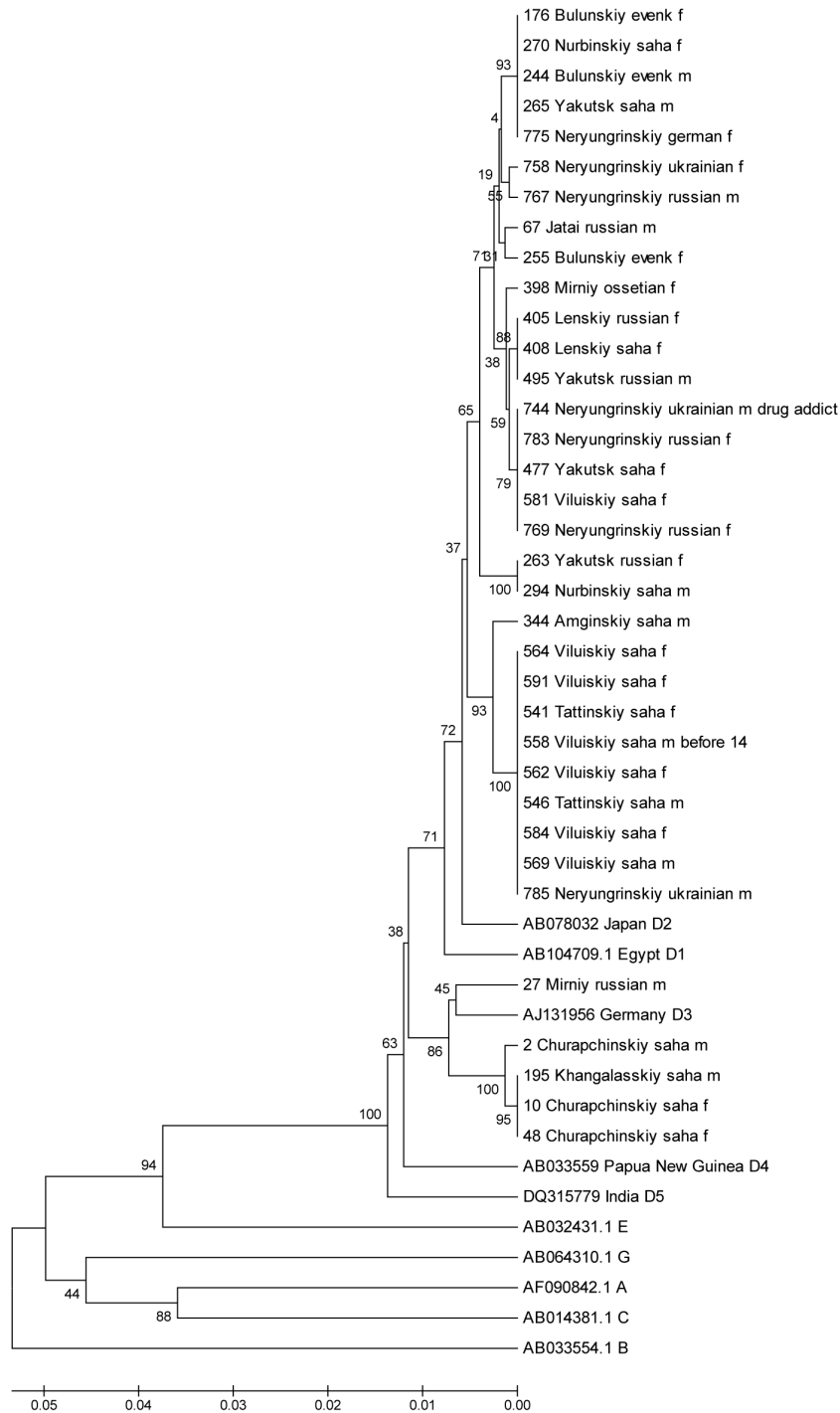


Рис. 1. Дендрограмма, характеризующая филогенетические отношения изолятов ВГВ, выделенных от пациентов с ХВГВ из разных регионов Республики Саха (Якутия)

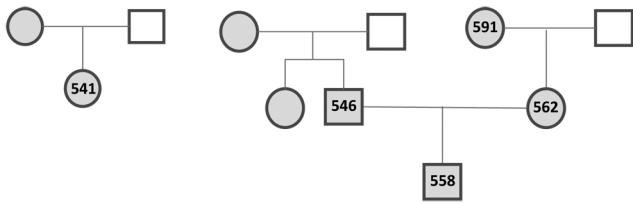


Рис. 3. Характеристика семейных связей некоторых пациентов кластера №4: ● – ХВГВ, □ – вирусный статус неизвестен

Пациентка 591 является матерью пациентки 562 и бабушкой пациента 558, проживающих в Вилюйском районе. При этом пациент 546, проживающий в Таттинском районе (в эпиданамнезе сестра и мать с ХВГВ), является отцом пациента 558. В эпиданамнезе пациентки 541, проживающей в Таттинском районе, описана мать с ХВГВ. Пациенты 564, 569 и 584 проживают в Вилюйском районе и, как и все перечисленные выше, являются представителями национальности саха. Высокая идентичность нуклеотидных последовательностей ВГВ данных изолятов позволяет предположить вертикальный путь распространения вируса в группе. Однако дендрограмма, построенная на основании метода минимальных эволюционных отличий допускает независимое происхождение ВГВ у пациентки 562 и пациентки 591 (рис. 4).

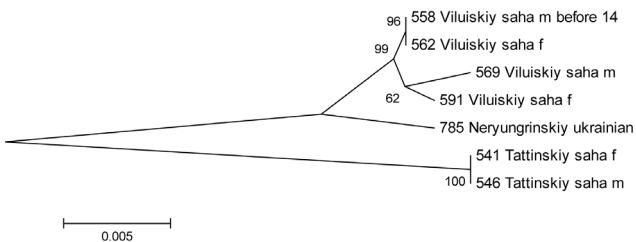


Рис. 4. Дендрограмма, характеризующая филогенетические отношения изолятов ВГВ субтипа D2 в кластере № 4 на основании Minimum Evolution method (bootstrap 500)

Ранее было показано, что высокий уровень инфицированности в регионе, а также высокая частота хронизации ВГВ связаны с вертикальным путем передачи инфекции [25]. Мы предполагаем возможное общее первичное инфицирование матриархов данных семей, а вероятно, и других семей региона, связанное с национальными культурными традициями и/или недостаточной обеспеченностью медицинской помощью региона в середине XX в. Таким образом, отмеченная значимость национального фактора для распределения ВГВ в Якутии является следствием культурных и

социальных факторов, а не биологических особенностей возбудителя.

В отличие от субтипа D2, широко распространенного в Российской Федерации, субтип D3 ВГВ встречается относительно редко, но он характерен для Северной Африки, Средиземноморья и Северной Америки. В нашем исследовании субтип D3 был выявлен у 14,2% пациентов. При анализе последовательностей изолятов субтипа D3 процент идентичности нуклеотидов составил 99%, при этом выявлен кластер, включающий образцы 10, 48 и 195, в пределах которого идентичность нуклеотидной последовательности составляет 100%, а также близкий к ним образец 2. Следует отметить, что ВГВ у пациентов 48 и 27 впервые был выявлен в 1984 и 1985 гг. соответственно, в то время как у пациентов 2, 10 и 195 ВГВ был выявлен в 2005, 2009 и 2011 гг. Таким образом, высока вероятность происхождения изолятов 2, 10 и 195 от общего источника с пациентом 48. Поскольку ВГВ субтипа D3 ассоциирован с парентеральным инфицированием, особенно среди наркоманов, нельзя исключать этот путь передачи [26]. Однако близкое сходство ВГВ субтипа D3 может также объясняться сравнительно недавним происхождением – согласно литературным данным, предполагаемый возраст существования субтипа D3 около 30–50 лет. При этом рассматривают возможность эпидемической дихотимии D2/D3 как следствие двух основных путей передачи – половой в неэндемичных регионах и парентеральный (инъекционные наркотики и передача внутри семьи) в высокоэндемичных регионах [23], что мы, по всей видимости, наблюдаем в Якутии.

Следует отметить клиническую и диагностическую значимость глубокого типирования ВГВ, в особенности относительно широко распространенного на территории бывшего СССР генотипа D. В мире наблюдается тенденция к смещению распространенности тех или иных генотипов ВГВ в различных регионах и выявлению редких субтипов в нехарактерных для них географических ареалах. Вероятнее всего, основной причиной этого является активный миграционный поток из стран Азии через Европу [27]. Хотя в России циркулирует преимущественно субтип D2, велика вероятность завоза субтипа D1 из стран Средней Азии. При этом для ВГВ субтипа D1 показана высокая частота мутаций в промоторе гена Core, ассоциированных с развитием гепатоцеллюлярной карциномы [28]. В то же время двойная мутация, приводящая к уменьшению или предотвращению синтеза HBeAg значительно чаще встречается у ВГВ субтипа D1 (33,3%), чем у субтипа D2 (8,3%) [29].

Обращает на себя внимание значительное отличие нуклеотидных последовательностей выявленных нами изолятов из Якутии от представленных в

международной базе данных изолятов, выделенных из относительно географически близких к Якутии регионов — Красноярского края и Ханты-Мансийского автономного округа. Высокое сходство якутских изолятов с изолятом из Франции обусловлено, скорее всего, сравнительно низким уровнем представленности в международной базе данных Genbank штаммов, изолированных на территории РФ в целом и в отдаленных регионах в частности. Так, например, в международной базе данных Genbank, по состоянию на октябрь 2015 г., депонированы более 90 000 последовательностей (или фрагментов последовательностей) ВГВ, из них 26 840 из Китая, 2170 из Италии, более 5000 из Великобритании, 838 из Грузии и т. д., в то время как со всей России, несмотря на обширность территорий и количество проживающих, представлены только 525 нуклеотидных последовательностей ВГВ. Данное обстоятельство становится серьезной проблемой для оценки распространенности генотипов гепатита В и анализа эпидемиологической ситуации в России, странах бывшего Советского Союза и географически близких регионах.

Выявленные нами четко кластеризующиеся группы изолятов ВГВ и тесные связи внутри групп говорят о существовании как минимум четырех постоянных источников инфицирования, действующих на протяжении нескольких лет и десятилетий, что свидетельствует о недостаточном контроле за эпидситуацией в регионе. Дальнейшие молекулярные эпидемиологические исследования необходимы, чтобы доказать или опровергнуть это утверждение. Масштабное скринирование ВГВ в Российской Федерации в целом и в отдаленных регионах позволило бы оценить пути распространения и время эволюционного разделения изолятов вируса.

Заключение

Распределение генотипов ВГВ в крупных городах, таких как Москва, Санкт-Петербург и Новосибирск, может существенно отличаться от распределения генотипов гепатита В в различных регионах РФ. Становятся очевидными причины, по которым необходимо масштабное скринирование изолятов ВГВ, выделяемых на территории Российской Федерации, с использованием метода прямого секвенирования нуклеотидных последовательностей. Для оценки распространенности вируса и установления путей передачи инфекции необходим филогенетический анализ на основании глубокого типирования изолятов с использованием прямого секвенирования.

Систематическое применение комплекса молекулярных, вирусологических, эпидемиологических методов и молекулярной филогенетики может способствовать как пониманию текущей эпидемиологической ситуации по ВГВ, так и повышению качества традиционных методов надзора в России.

Литература

1. Нечаев, В.В. Хронические вирусные гепатиты: прошлое, настоящее, будущее / В.В. Нечаев, С.Л. Мукомолов, В.Ю. Назаров, Л.Н. Пожидаева, В.В. Чахарьян // Эпидемиология и инфекционные болезни. — 2013. — № 3. — С. 4-10.
2. World Health Organization. Hepatitis B factsheet N°204 Updated July 2015. [Internet] Geneva: WHO, 2015. Available from: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs204/en/>
3. Hepatitis B general fact sheet. Centre for Disease Control and Prevention. 2010; Publication №. 21-1073.
4. Yuen, M.F. Hepatitis B virus genotypes: natural history and implications for treatment / M.F. Yuen, C.L. Lai // Expert Rev. Gastroenterol. Hepatol. — 2007. — vol. 1. — P. 321 — 328.
5. Мукомолов, С.Л. Применение иммуноглобулина против гепатита В для профилактики этой инфекции / С.Л. Мукомолов, М.И. Михайлов // Эпидемиология и инфекционные болезни. Актуальные вопросы. — 2014. — № 1. — С. 47-54.
6. Елпаева, Е.А. Генотипическая характеристика вируса гепатита В у хронически инфицированных больных / Елпаева Е.А., Порецкова Е.А., Писарева М.А., Ковеленов А.Ю., Алихан И.С., Гальбрайт Р.Б., Грудинин М.П., Эсауленко Е.В. // Дальневосточный журнал инфекционной патологии. — 2009. — № 15. — С. 55-58.
7. Khan, A. Epidemiological and clinical evaluation of hepatitis B, hepatitis C, and delta hepatitis viruses in Tajikistan / A. Khan, F. Kurbanov, Y. Tanaka, A. Elkady, M. Sugiyama, A. Dustov, M. Mizokami // J. Med. Virol. — 2008. — vol. 80 (2). — P. 268-276.
8. Kato, H. Hepatitis B virus genotypes in Uzbekistan and validity of two different systems for genotyping / H. Kato, R. Ruzibakiev, N. Yuldasheva, T. Hegay, F. Kurbanov, B. Achundjanov, L. Tuichiev, S. Usuda, R. Ueda, M. Mizokami // J. Med. Virol. — 2002. — vol. 67 (4). — P. 477-483.
9. Елпаева, Е. А. Роль мутантных форм вируса гепатита В в прогрессирующем течении хронического гепатита В / Е. А. Елпаева, М. М. Писарева, О. Е. Никитина, С. Н. Кижло, М. П. Грудинин, О. П. Дуданова // Ученые записки Петрозаводского Государственного университета. Серия: естественные и технические науки. — 2014. — т. 6. — С. 41-46.
10. Писарева, М. М. Молекулярно-биологические особенности вируса гепатита В дикой и мутантной форм в трех регионах Российской Федерации: автореф. дис. ... канд. биол. наук / М. М. Писарева. — СПб., 2007. — 110 с.
11. Guirgis, B.S.S., Hepatitis B virus genotyping: current methods and clinical implications / B.S.S. Guirgis, R.O. Abbas, H.M.E. Azzazy // Int. J. Infect. Dis. — 2010. — vol. 14. — P. 941-953.
12. Семенов, А.В., Молекулярно-эпидемиологические особенности изолятов вируса гепатита С из разных регионов Республики Саха (Якутия) / Семенов А.В., Останкова Ю.В., Герасимова В.В., Бичурина М.А., Козлов А.В., Мукомолов С.Л., Тоголян Арег А. // Инфекция и иммунитет. — 2015. — Т. 5. № 4. — С. 359-372.
13. Brichtler, S. African, Amerindian and European hepatitis B virus strains circulate on the Caribbean Island of Martinique / S. Brichtler, G. Lagathu, M.A. Chekaraou, F. Le Gal, A. Edouard, P. Dény, R. Césaire, E. Gordien // J. Gen. Virol. — 2013. — vol. 94 (Pt 10). — P. 2318-2329.
14. Higgins, D.G. CLUSTAL V: improved software for multiple sequence alignment / D.G. Higgins, A.J. Bleasby, R. Fuchs // Comput. Appl. Biosci. — 1992. — vol. 8. — P. 189–191.
15. Tamura, K. Nei: MEGA5: molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods / K. Tamura, D. Peterson, N. Peterson, G. Stecher // Mol. Biol. Evol. — 2011. — vol. 28. — P. 2731 — 2739.
16. Deterding, K. Prevalence of HBV genotypes in Central and Eastern Europe / K. Deterding, I. Constantinescu, F.D.

Nedelcu, J. Gervain, V. Nemecek, O. Srtunecy, A. Vince, I. Grgurevic, K.P. Bielawski, M. Zaleska // *J. Med. Virol.* — 2008. — vol. 80. — P. 1707–1711.

17. Dzierzanowska-Fangrat, K. Hepatitis B virus genotypes in children with chronic hepatitis B in Poland / K. Dzierzanowska-Fangrat, M. Woynarowski, I. Szczygielska, P. Jozwiak, J. Cielecka-Kuszyk, D. Dzierzanowska, K. Madalinski // *Eur. J. Gastroenterol. Hepatol.* — 2006. — vol. 18. — P. 655–658.

18. Индеева, Л.Д. Эпидемиологическая и клинико-морфологическая характеристика гепатитов В и С и гетерогенность их возбудителей в Республике Саха (Якутия): автореф. дис. ... канд. мед. наук / Л.Д. Индеева. — М., 2010. — 25 с.

19. Кузин, С.Н. Генетическое разнообразие вируса гепатита В на территории Республики Саха (Якутия) / С.Н. Кузин, Н.Н. Забелин, Е.И. Самохвалов // *Эпидемиология и вакцинопрофилактика.* — 2008. — т. 5. — С. 1–5.

20. Морозов, В. М. Молекулярно-генетическая характеристика вариантов вируса гепатита В, циркулирующих в Санкт-Петербурге и Якутии: автореф. дис. ... канд. биол. наук / В. М. Морозов. — СПб., 2003. — 127 с.

21. Зотова, А.В. Распространенность вирусных гепатитов В и С среди оленеводов-кочевников в Республике Саха (Якутия) / А.В. Зотова, О.Е. Попова, К.К. Кюрегин // *Материалы VII Российской научно-практической конференции с международным участием "Вирусные гепатиты — эпидемиология, диагностика, лечение и профилактика"*. — 2007. — С. 28–29.

22. Мануйлов, В.А. Различная встречаемость субгенотипов вируса гепатита В и субтипов HBsAg у коренного населения Сибири / В.А. Мануйлов, Е.В. Чуб, И.Г. Нетесова // *Материалы VII Российской научно-практической конференции с международным участием "Вирусные гепатиты — эпидемиология, диагностика, лечение и профилактика"*. — 2007. — С. 45–46.

23. Ramachandran, S. Recent Population Expansions of Hepatitis B Virus in the United States / S. Ramachandran, M.A. Purdy, G. Xia, D.S. Campo, Z.E. Dimitrova, E.H. Teshale, Ch.G. Teo, Y.E. Khudiyakov // *Virol.* — 2014. — vol. 88 (24). — P. 13971–13980.

24. Tallo, T. Hepatitis B virus genotype D strains from Estonia share sequence similarity with strains from Siberia and may specify ayw4 / T. Tallo, H. Norder, V. Tefanova, T. Krispin, L. Priimagi, S. Mukomolov, M. Mikhailov, L. O. Magnus // *J. Med. Virol.* — 2004. — vol. 74. — P. 221–227.

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

26. De Maddalena, C. High level of genetic heterogeneity in S and P genes of genotype D hepatitis B virus / C. De Maddalena, C. Giambelli, E. Tanzi, D. Colzani, M. Schiavini, L. Milazzo, F. Bernini, E. Ebranati, A. Cargnel, R. Bruno, M. Galli, G. Zehender // *Virology.* — 2007. — vol. 365. — P. 113-124.

27. Bissinger, A.L. Epidemiology and Genotyping of Patients with Chronic Hepatitis B: Genotype Shifting Observed in Patients from Central Europe / A.L. Bissinger, C. Fehrle, C.R. Werner, U.M. Lauer, N.P. Malek, C.P. Berg // *Pol. J. Microbiol.* — 2015. — vol. 64(1). — P. 15-21.

28. Khan, A. Novel point mutations and mutational complexes in the enhancer II, core promoter and precore regions of hepatitis B virus genotype D1 associated with hepatocellular carcinoma in Saudi Arabia / Khan A., Al Balwi M.A., Tanaka Y., Hajeer A., Sanai F.M., Al Abdulkarim I., Al Ayyar L., Badri M., Saudi D., Tamimi W., Mizokami M., Al Knawy B. // *Int. J. Cancer.* — 2013. — vol. 133 (12). — P. 2864-2871.

29. Banerjee, P. A Rare HBV Subgenotype D4 with Unique Genomic Signatures Identified in North-Eastern India — An

Emerging Clinical Challenge? / Banerjee P., Mondal R. K., Nandi M., Ghosh S., Khatun M., Chakraborty N., Bhattacharya S., RoyChoudhury A., Banerjee S., Santra A., Sil S., Chowdhury A., Bhaumik P., Datta S. // *PLoS One.* — 2014. — vol. 9 (10). e109425.

References

1. Nechaev, V.V. Hronicheskie virusnye gepatity: proshloe, nastoyashchee, budushchee / V.V. Nechaev, S.L. Mukomolov, V.YU. Nazarov, L.N. Pozhidaeva, V.V. CHahar'yan // *Epidemiologiya i infekcionnye bolezni.* — 2013. — № 3. — С. 4-10. (In Russia)

2. World Health Organization. Hepatitis B factsheet N°204 Updated July 2015. [Internet] Geneva: WHO, 2015. Available from: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs204/en/>

3. Hepatitis B general fact sheet. Centre for Disease Control and Prevention. 2010; Publication №. 21-1073.

4. Yuen, M.F. Hepatitis B virus genotypes: natural history and implications for treatment / M.F. Yuen, C.L. Lai // *Expert Rev. Gastroenterol. Hepatol.* — 2007. — vol. 1. — P. 321–328.

5. Mukomolov, S.L. Primenenie immunoglobulina protiv gepatita v dlya profilaktiki ehtoj infekcii / S.L. Mukomolov, M.I. Mihajlov // *Epidemiologiya i infekcionnye bolezni. Aktual'nye voprosy.* — 2014. — № 1. — С. 47-54. (In Russia)

6. Elpaeva, E.A. Genotipicheskaya harakteristika virusa gepatita V u hronicheski inficirovannyh bol'nyh / Elpaeva E.A., Poreckova E.A., Pisareva M.A., Kovelonov A.YU., Alikyan I.S., Gal'braj R.B., Grudin M.P., Esaulenko E.V. // *Dal'nevostochnyj zhurnal infekcionnoj patologii.* — 2009. — № 15. — С. 55-58. (In Russia)

7. Khan, A. Epidemiological and clinical evaluation of hepatitis B, hepatitis C, and delta hepatitis viruses in Tajikistan / A. Khan, F. Kurbanov, Y. Tanaka, A. Elkady, M. Sugiyama, A. Dustov, M. Mizokami // *J. Med. Virol.* — 2008. — vol. 80 (2). — P. 268-276.

8. Kato, H. Hepatitis B virus genotypes in Uzbekistan and validity of two different systems for genotyping / H. Kato, R. Ruzibakiev, N. Yuldasheva, T. Hegay, F. Kurbanov, B. Achundjanov, L. Tuichiev, S. Usuda, R. Ueda, M. Mizokami // *J. Med. Virol.* — 2002. — vol. 67 (4). — P. 477-483.

9. Elpaeva, E. A. Rol' mutantnyh form virusa gepatita V v progressiruyushchem techenii hronicheskogo gepatita V / E. A. Elpaeva, M. M. Pisareva, O. E. Nikitina, S. N. Kizhlo, M. P. Grudin, O. P. Dudanova // *Uchenye zapiski Petrozavodskogo Gosudarstvennogo universiteta. Seriya: estestvennye i tekhnicheskie nauki.* — 2014. — t. 6. — С. 41-46. (In Russia)

10. Pisareva, M. M. Molekulyarno-biologicheskie osobennosti virusa gepatita B dikoj i mutantnoj form v trekh regionah Rossijskoj Federacii: avtoref. dis. ... kand. biol. nauk / M. M. Pisareva. — SPb., 2007. — 110 s. (In Russia)

11. Guirgis, B.S.S., Hepatitis B virus genotyping: current methods and clinical implications / B.S.S. Guirgis, R.O. Abbas, H.M.E. Azzazy // *Int. J. Infect. Dis.* — 2010. — vol. 14. — P. 941-953.

12. Semenov, A.V., Molekulyarno-ehpidemiologicheskie osobennosti izolyatov virusa gepatita S iz raznyh regionov Respubliki Saha (Yakutiya) / Semenov A.V., Ostankova YU.V., Gerasimova V.V., Bichurina M.A., Kozlov A.V., Mukomolov S.L., Totolyan Areg A. // *Infekciya i immunitet.* — 2015. — Т. 5. № 4. — С. 359-372. (In Russia)

13. Brichtler, S. African, Amerindian and European hepatitis B virus strains circulate on the Caribbean Island of Martinique / S. Brichtler, G. Lagathu, M.A. Chekaraou, F. Le Gal, A. Edouard, P. Dény, R. Césaire, E. Gordien // *J. Gen. Virol.* — 2013. — vol. 94 (Pt 10). — P. 2318-2329.

14. Higgins, D.G. CLUSTAL V: improved software for multiple sequence alignment / D.G. Higgins, A.J. Bleasby, R. Fuchs // *Comput. Appl. Biosci.* — 1992. — vol. 8. — P. 189–191.

15. Tamura, K. Nei: MEGA5: molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods / K. Tamura, D. Peterson, N. Peterson, G. Stecher // *Mol. Biol. Evol.* — 2011. — vol. 28. — P. 2731–2739.
16. Deterding, K. Prevalence of HBV genotypes in Central and Eastern Europe / K. Deterding, I. Constantinescu, F.D. Nedelcu, J. Gervain, V. Nemecek, O. Srtunecy, A. Vince, I. Grgurevic, K.P. Bielawski, M. Zalewska // *J. Med. Virol.* — 2008. — vol. 80. — P. 1707–1711.
17. Dzierzanowska-Fangrat, K. Hepatitis B virus genotypes in children with chronic hepatitis B in Poland / K. Dzierzanowska-Fangrat, M. Woynarowski, I. Szczygielska, P. Jozwiak, J. Cielecka-Kuszyk, D. Dzierzanowska, K. Madalinski // *Eur. J. Gastroenterol. Hepatol.* — 2006. — vol. 18. — P. 655–658.
18. Indeeva, L.D. EHpidemiologicheskaya i kliniko-morfologicheskaya harakteristika gepatitov B i C i geterogennost' ih vzbuditelej v Respublike Saha (YAkutiya): avtoref. dis. ... kand. med. Nauk / L.D. Indeeva. — M., 2010. — 25 s. (In Russia)
19. Kuzin, S.N. Geneticheskoe raznoobrazie virusa gepatita V na territorii Respubliki Saha (YAkutiya) / S.N. Kuzin, N.N. Zabelin, E.I. Samohvalov // *EHpidemiologiya i vakcinoprofilaktika.* — 2008. — t. 5. — S. 1–5. (In Russia)
20. Morozov, V. M. Molekulyarno-geneticheskaya harakteristika variantov virusa gepatita V, cirkuliruyushchih v Sankt-Peterburge i YAkutii: avtoref. dis. ... kand. biol. nauk / V. M. Morozov. — SPb., 2003. — 127 s. (In Russia)
21. Zotova, A.V. Rasprostranennost' virusnyh gepatitov V i S sredi olenevodov-kochevnikov v Respublike Saha (YAkutiya) / A.V. Zotova, O.E. Popova, K.K. Kyuregyan // *Materialy VII Rossijskoj nauchno-prakticheskoy konferencii s mezhdunarodnym uchastiem «Virusnye gepatity — ehpidemiologiya, diagnostika, lechenie i profilaktika».* — 2007. — S. 28–29. (In Russia)
22. Manujlov, V.A. Razlichnaya vstrechaemost' subgenotipov virusa gepatita V i subtipov HBsAg u korennoogo naseleniya Sibiri / V.A. Manujlov, E.V. CHub, I.G. Netesova // *Materialy VII Rossijskoj nauchno-prakticheskoy konferencii s mezhdunarodnym uchastiem «Virusnye gepatity — ehpidemiologiya, diagnostika, lechenie i profilaktika».* — 2007. — C. 45–46. (In Russia)
23. Ramachandran, S. Recent Population Expansions of Hepatitis B Virus in the United States / S. Ramachandran, M.A. Purdy, G. Xia, D.S. Campo, Z.E. Dimitrova, E.H. Teshale, Ch.G. Teo, Y.E. Khudyakov // *Virol.* — 2014. — vol. 88 (24). — P. 13971–13980.
24. Tallo, T. Hepatitis B virus genotype D strains from Estonia share sequence similarity with strains from Siberia and may specify ayw4 / T. Tallo, H. Norder, V. Tefanova, T. Krispin, L. Priimagi, S. Mukomolov, M. Mikhailov, L. O. Magnius // *J. Med. Virol.* — 2004. — vol. 74. — P. 221–227.
25. Gerasimova, V.V. Molekulyarnaya ehpidemiologiya virusa gepatita V v YAkutii / V.V. Gerasimova, N.R. Maksimova, I.A. Levakova, S.L. Mukomolov // *YAkutskij medicinskij zhurnal.* — 2014. — № 3 (47). — S. 54-57. (In Russia)
26. De Maddalena, C. High level of genetic heterogeneity in S and P genes of genotype D hepatitis B virus / C. De Maddalena, C. Giambelli, E. Tanzi, D. Colzani, M. Schiavini, L. Milazzo, F. Bernini, E. Ebranati, A. Cargnel, R. Bruno, M. Galli, G. Zehender // *Virology.* — 2007. — vol. 365. — P. 113-124.
27. Bissinger, A.L. Epidemiology and Genotyping of Patients with Chronic Hepatitis B: Genotype Shifting Observed in Patients from Central Europe / A.L. Bissinger, C. Fehrle, C.R. Werner, U.M. Lauer, N.P. Malek, C.P. Berg // *Pol. J. Microbiol.* — 2015. — vol. 64(1). — P. 15-21.
28. Khan, A. Novel point mutations and mutational complexes in the enhancer II, core promoter and precore regions of hepatitis B virus genotype D1 associated with hepatocellular carcinoma in Saudi Arabia / Khan A., Al Balwi M.A., Tanaka Y., Hajeer A., Sanai F.M., Al Abdulkarim I., Al Ayyar L., Badri M., Saudi D., Tamimi W., Mizokami M., Al Knawy B. // *Int. J. Cancer.* — 2013. — vol. 133 (12). — P. 2864-2871.
29. Banerjee, P. A Rare HBV Subgenotype D4 with Unique Genomic Signatures Identified in North-Eastern India — An Emerging Clinical Challenge? / Banerjee P., Mondal R. K., Nandi M., Ghosh S., Khatun M., Chakraborty N., Bhattacharya S., RoyChoudhury A., Banerjee S., Santra A., Sil S., Chowdhury A., Bhaumik P., Datta S. // *PLoS One.* — 2014. — vol. 9 (10). e109425.

Авторский коллектив:

Семенов Александр Владимирович — заведующий лабораторией вирусологии и иммунологии ВИЧ-инфекции Санкт-Петербургского научно-исследовательского института эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, доцент кафедры иммунологии Первого Санкт-Петербургского государственного медицинского университета имени академика И.П. Павлова; доцент кафедры клинической лабораторной диагностики Северо-Западного государственного медицинского университета им. И.И. Мечникова, к.б.н.; тел.: 8(812)233-20-92, e-mail: alexvsemenov@yahoo.com

Останкова Юлия Владимировна — научный сотрудник лаборатории молекулярной иммунологии Санкт-Петербургского научно-исследовательского института эпидемиологии и микробиологии имени Пастера; тел.: 8(812)233-20-92, e-mail: shenna1@yandex.ru

Герасимова Вилена Васильевна — врач-вирусолог высшей квалификационной категории, научный сотрудник учебно-научной лаборатории «Геномная медицина» клиники медицинского института Северо-Восточного федерального университета им. М.К. Аммосова; тел.: +7(4112)36-05-04, e-mail: virilab@mail.ru

Бичурин Маина Александровна — заведующая лабораторией этиологии и контроля вирусных инфекций Санкт-Петербургского научно-исследовательского института эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, д.м.н.; тел.: 8(812)233-21-56, e-mail: poliospb@nr3854.spb.edu

Козлов Антон Владимирович — заведующий кафедрой клинической лабораторной диагностики Северо-Западного государственного медицинского университета им. И.И. Мечникова, д.м.н., профессор; тел.: 8(812)275-19-01, e-mail: kafedrabk@mail.ru

Тотolian Арег Артемович — заведующий лабораторией молекулярной иммунологии Санкт-Петербургского научно-исследовательского института эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, заведующий кафедрой иммунологии Первого Санкт-Петербургского государственного медицинского университета имени академика И.П. Павлова, д.м.н., профессор, член-корреспондент РАН; тел.: 8(812)232-00-66, e-mail: totolian@pasteurg.org.ru