

DOI: 10.21055/0370-1069-2019-3-118-124

УДК 616.36-002+616.98:578.828Н1V

А.Н. Щемелев¹, Ю.В. Останкова¹, Е.Б. Зуева¹, S. Boumbaly^{2,3}, T.A.L. Balde², A.V. Семенов¹

ХАРАКТЕРИСТИКА ВИРУСА ГЕПАТИТА В И ВИРУСА ИММУНОДЕФИЦИТА ЧЕЛОВЕКА СРЕДИ ПАЦИЕНТОВ С КОИНФЕКЦИЕЙ ВИЧ/ВГВ ИЗ ГВИНЕЙСКОЙ РЕСПУБЛИКИ

¹ФБУН «Санкт-Петербургский НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера», Санкт-Петербург, Российская Федерация;²Научно-исследовательский институт прикладной биологии Гвинеи, Киндия, Гвинейская Республика; ³Международный исследовательский центр по тропическим инфекциям в Гвинеи, Н'Зерекоре, Гвинейская Республика

Целью нашей работы являлась молекулярно-генетическая характеристика вируса гепатита В и вируса иммунодефицита человека у пациентов с коинфекцией ВИЧ/ВГВ, проживающих в Гвинейской Республике. **Материалы и методы.** Материалом исследования служили 2168 образцов сыворотки крови, полученные от жителей Гвинейской Республики – доноров крови и условно здоровых людей без подозрения на болезнь, вызванную вирусом Эбола, в рамках плановой диспансеризации сотрудников ОК РУСАЛ и членов их семей. Проводили обследование на наличие серологических и молекулярно-биологических маркеров ВИЧ и ВГВ. При выявлении коинфекции ВИЧ/ВГВ секвенировали нуклеотидные последовательности полных геномов ВГВ и фрагмента гена *pol* ВИЧ. **Результаты и обсуждение.** Серологические маркеры ВИЧ выявлены у 239 человек, что составило 11,02 %. РНК ВИЧ удалось выявить у 31 человека, что составило 12,9 % пациентов серопозитивной группы (1,43 % от общей группы). Серологические маркеры ВГВ среди РНК ВИЧ-позитивных лиц выявлены у 29,03 % пациентов, в том числе 16,12 % HBsAg и 12,9 % anti-HBcore IgG. ДНК ВГВ выявили у всех HBsAg-позитивных и у двух anti-HBcore IgG-позитивных пациентов, а также у 12 человек, негативных по всем анализируемым в работе серологическим маркерам ВГВ. Таким образом, ДНК ВГВ обнаружили у 61,29 % РНК ВИЧ-позитивных лиц. На основании анализа нуклеотидных последовательностей фрагмента гена *pol* 19 образцов ВИЧ показано, что в обследованной группе преобладает циркулирующая рекомбинантная форма ВИЧ CRF02_AG (52,63 %) по сравнению с ВИЧ A1 (42,1 %), один образец представлял собой независимый рекомбинант генотипов A1 и G. При филогенетическом анализе ВГВ в исследуемых образцах показано, что в группе преобладает ВГВ генотипа E – 47,36 %, по сравнению с ВГВ D1 – 21,05 %, D2 – 15,78 %, D3 – 10,52 % и A2 – 5,26 %. Обнаружены образцы ВИЧ и ВГВ, несущие мутации лекарственной устойчивости, несмотря на отсутствие антиретровирусной терапии. Выявление мутаций лекарственной устойчивости как ВИЧ, так и ВГВ у АРВТ-наивных пациентов подчеркивают необходимость реализации программ эпиднадзора за ВИЧ-инфицированными, а также планового тестирования на ВГВ и лекарственную устойчивость ВИЧ и ВГВ перед началом антиретровирусной терапии при клиническом ведении пациентов в стране.

Ключевые слова: вирус иммунодефицита человека, ВИЧ, вирус гепатита В, ВГВ, скрытый гепатит В, Гвинейская Республика.

Корреспондирующий автор: Останкова Юлия Владимировна, e-mail: shenna1@yandex.ru.

Для цитирования: Щемелев А.Н., Останкова Ю.В., Зуева Е.Б., Boumbaly S., Balde T.A.L., Семенов А.В. Характеристика вируса гепатита В и вируса иммунодефицита человека среди пациентов с коинфекцией ВИЧ/ВГВ из Гвинейской Республики. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2019; 3:118–124. DOI: 10.21055/0370-1069-2019-3-118-124

A.N. Shchemelev¹, Yu.V. Ostankova¹, E.B. Zueva¹, S. Boumbaly^{2,3}, T.A.L. Balde², A.V. Semenov¹

Characterization of Hepatitis B Virus and Human Immunodeficiency Virus among HIV/HBV Co-Infected Patients from the Republic of Guinea

¹Saint-Petersburg Pasteur Institute, Saint-Petersburg, Russian Federation; ²Research Institute of Applied Biology, Kindia, Republic of Guinea; ³International Tropical Infections Research Center, N'Zerekore, Republic of Guinea

Abstract. Aim. Molecular genetic characterization of hepatitis B virus and human immunodeficiency virus in patients with HIV / HBV co-infection living in the Republic of Guinea. **Materials and methods.** 2168 blood serum samples obtained from the Republic of Guinea residents – blood donors and conditionally healthy people, without suspicion of Ebola virus disease, UK RUSAL employees and their families, as part of their routine medical examination. The presence of serological and molecular biological markers of HIV and HBV was examined. When HIV/HBV co-infection was detected, the nucleotide sequences of the complete HBV genomes and the HIV *pol* gene fragment were sequenced. **Results and discussion.** HIV serological markers were detected in 239 people (11.02 %). HIV RNA was detected in 31 people, which accounted for 12.9 % of patients in the seropositive group (1.43 % of the total group). HBV serological markers among HIV RNAs-positive individuals were detected in 29.03 % of patients, including 16.12 % HBsAg and 12.9 % anti-HBcore IgG. HBV DNA was detected in all HBsAg-positive and in two anti-HBcore IgG-positive patients, as well as in 12 people negative for all HBV serological markers analyzed in the work. Thus, HBV DNA was found in 61.29 % of HIV RNA-positive individuals. Based on the *pol* gene fragment nucleotide sequences analysis of 19 HIV samples, it was shown that the HIV circulating recombinant form CRF02_AG prevails in the examined group (52.63 %) compared with HIV A1 (42.1 %), one sample was an independent recombinant of genotypes A1 and G. HBV phylogenetic analysis of the studied samples showed that genotype E prevails – 47.36 %, compared with HBV D1 – 21.05 %, D2 – 15.78 %, D3 – 10.52 % and A2 – 5.26 %. HIV and HBV samples have been detected that carry drug resistance mutations despite the antiretroviral therapy absence. HIV and HBV drug resistance mutations identification in ART-naive patients empha-

sizes the need for HIV surveillance programs as well as routine testing for HBV and HIV and HBV drug resistance before starting antiretroviral therapy in the clinical management of patients in the country.

Keywords: human immunodeficiency virus, HIV, hepatitis B virus, HBV, latent hepatitis B, Republic of Guinea.

Conflict of interest: The authors declare no conflict of interest.

Corresponding author: Yulia V. Ostankova, e-mail: shenna1@yandex.ru.

Citation: Shchemelev A.N., Ostankova Yu.V., Zueva E.B., Boumbaly S., Balde T.A.L., Semenov A.V. Characterization of Hepatitis B Virus and Human Immunodeficiency Virus among HIV/HBV Co-Infected Patients from the Republic of Guinea. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2019; 3:118–124. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2019-3-118-124

Received 25.09.19. Accepted 26.09.19.

Schemelev A.N., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3139-3674>

Ostankova Yu.V., ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-2270-8897>

Zueva E.B., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0579-110X>

Semenov A.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3223-8219>

Вирус иммунодефицита человека (ВИЧ) и возбудителей парентеральных вирусных гепатитов связывают общность механизмов и путей заражения, а также социально значимый характер вызываемых ими заболеваний [1, 2]. Вирус гепатита В (ВГВ) является одним из наиболее распространенных гепатотропных вирусов, способных приводить как к острым, так и к хроническим заболеваниям печени [3, 4]. Появление хронической инфекции, вызванной ВГВ, в контексте иммуносупрессии у ВИЧ-инфицированных пациентов остается проблемой общественного здравоохранения.

Около 10 % ВИЧ-инфицированных людей в мире коинфицированы HBsAg-положительным вирусом гепатита В. Распространенность коинфекции ВИЧ/ВГВ характеризуется географической вариабельностью и зависит, главным образом, от преобладающих путей заражения. Так, не менее 3 млн людей, коинфицированных ВИЧ/ВГВ, живут в Африке [5]. Работы, посвященные коинфекции ВИЧ/ВГВ, показали влияние ВИЧ-инфекции на течение гепатита В, приводящее к ускорению естественного течения хронического вирусного гепатита В (ХВГВ), увеличению частоты устойчивости инфекции, потере защитных антител против ВГВ, повышению риска прогрессирования поражения печени, заканчивающегося ранним развитием цирроза, и повышению риска летального исхода от заболевания печени [6].

Скрытый (HBsAg-негативный) гепатит В (СкГВ) представляет собой стадию ХВГВ, при которой ДНК ВГВ обнаруживается в ткани печени при неопределяемом уровне HBsAg в сыворотке периферической крови, не зависимо от того выявляется или нет ДНК ВГВ в периферической крови [7]. При этом репликация вируса и экспрессия генов могут быть подавлены настолько, что вирусная нагрузка в периферической крови больного крайне низка, вплоть до невозможности выявить ДНК ВГВ стандартными методами, но элиминации вируса не происходит. Сохранение кольцевой ковалентно-замкнутой ДНК вируса в виде минихромосомы остается ключевым фактором, ответственным за невозможность полной элиминации вируса и за рецидивы вирусной репликации после прекращения противовирусной терапии [8]. Несмотря на отсутствие в периферической крови HBsAg, большинство пациентов с СкГВ являются серопозитивными по одному или нескольким

серологическим маркерам – в зависимости от фазы течения заболевания анти-HBs IgG, HBeAg, анти-HBe, анти-HBscore IgG, однако более 20 % больных серонегативны по всем маркерам ВГВ [9]. Развитие СкГВ обусловлено подавлением внутриядерной транскрипции субгеномных РНК ВГВ с матрицы ккз ДНК ВГВ, способной становиться матрицей для субгеномных и прегеномных копий РНК, на основе которых синтезируется вирусный геном и вирусные белки [10]. Подавление может быть следствием целого ряда не до конца изученных факторов, в том числе генетическими особенностями самого вируса и/или его хозяина или воздействием извне. Одним из таких факторов является коинфекция ВИЧ.

Особую значимость приобретает своевременное выявление ВГВ у ВИЧ-инфицированных лиц перед началом антиретровирусной терапии (АРВТ). Терапия с высокой активностью одновременно в отношении ВИЧ и ВГВ при коинфекции приводит к улучшению результатов лечения, однако неадекватное подавление репликации ВГВ противовирусными препаратами может привести к развитию устойчивых мутаций в консервативной области гена полимеразы, поскольку некоторые элементы АРВТ, применяемой против ВИЧ-инфекции, способны стать причиной развития фармакорезистентности как у ВИЧ, так и у ВГВ [11].

Данные о генетическом разнообразии ВИЧ и ВГВ также имеют значение для ведения пациентов с коинфекцией, учитывая, что различные геноварианты вирусов могут влиять на реакцию на противовирусную терапию и ее результаты [12, 13].

Целью работы являлась молекулярно-генетическая характеристика вируса гепатита В и вируса иммунодефицита человека у пациентов с коинфекцией ВИЧ/ВГВ, проживающих в Гвинейской Республике.

Материалы и методы

Материалом исследования служили 2168 образцов сыворотки крови, полученные от жителей Гвинейской Республики – доноров крови и условно здоровых людей без подозрения на болезнь, вызванную вирусом Эбола, в рамках плановой диспансеризации сотрудников ОК РУСАЛ и членов их семей. Обследованные лица отрицали инфицирование ВГВ и ВИЧ в анамнезе.

Пациентов обследовали на наличие антигенов ВИЧ и антител к вирусу методом ИФА, а затем выявляли РНК ВИЧ. Обследование РНК ВИЧ-позитивных пациентов на наличие маркеров ВГВ методом ИФА заключалось в качественном определении HBsAg, анти-HBs IgG, анти-HBcore IgG. Для обнаружения ДНК ВГВ использовали разработанную во ФБУН «Санкт-Петербургский НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера» методику, позволяющую выявлять ВГВ в биологическом материале при низкой вирусной нагрузке [14]. Амплификацию и последующее секвенирование ВГВ осуществляли с использованием nested-ПЦР. На первом этапе проводили ассиметричную ПЦР с протяженными олигонуклеотидами, а на втором этапе для повышения чувствительности проводили ПЦР с использованием продукта амплификации первой реакции и одной из пар внутренних (вложенных) перекрывающихся праймеров, совместно фланкирующих полный ген ВГВ (гены S, P, C, X).

Для обратной транскрипции и амплификации ВИЧ использовали коммерческие наборы «ОТ-ПЦР-комплект-Pro/Rev» и «ПЦР-комплект-Pro/Rev» (Россия), секвенирующую реакцию проводили согласно инструкции к набору «АмплиСенс® HIV-Resist-Seq» (Россия) и инструкции производителя. Генотипирование ВИЧ проводили на основе анализа нуклеотидных последовательностей участка гена полимеразы (*pol*) протяженностью 1377 нт., кодирующего протеазу (PR) и часть обратной транскриптазы (RT/OT) в области 2084–3460 нт., координаты даны для представленного в международной базе данных GenBank ВИЧ HXB2 (K03455.1).

Анализ продуктов секвенирующей реакции проводили с использованием генетического анализатора ABI Prism 3500 (США).

Первичный анализ нуклеотидных последовательностей проводили с помощью программы NCBI Blast в сравнении с нуклеотидными последовательностями, представленными в международной базе данных GenBank. Выравнивание нуклеотидных последовательностей проводили в программе MEGA v.7.0, используя алгоритм ClustalW [15]. Для построения филогенетических деревьев и последующего филогенетического анализа применяли алгоритм Neighbor-joining, позволяющий оптимизацию деревьев в соответствии с критерием «сбалансированной минимальной эволюции», при оценке достоверности филогенетических связей использовали многократную генерацию выборок методом Монте-Карло (*bootstrap*) для 1000 независимых построений каждого филогенетического древа.

Статистическая обработка данных производилась с помощью пакета программ MS Excel, Prizm 5.0 (GraphPad Software Inc.). Для оценки достоверности различий численных данных, полученных при парных сравнениях, использовали, в зависимости от характеристик выборок, точный критерий Фишера или критерий Хи-квадрат с поправкой Йетса. В ка-

честве порога достоверности отличий определено значение вероятности $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Серологические маркеры ВИЧ выявлены у 239 человек, что составило 11,02 %. Отметим, что 69,45 % пациентов с выявленными маркерами ВИЧ являлись молодыми людьми в возрасте от 20 до 39 лет. РНК ВИЧ удалось выявить у 31 человека, что составило 12,9 % пациентов серопозитивной группы (1,43 % от общей группы).

Серологические маркеры ВГВ среди РНК ВИЧ-позитивных лиц выявлены у 29,03 % пациентов, в том числе 16,12 % HBsAg и 12,9 % анти-HBcore IgG. ДНК ВГВ выявили у всех HBsAg-позитивных и у двух анти-HBcore IgG-позитивных пациентов, а также у 12 человек, негативных по всем анализируемым в работе серологическим маркерам ВГВ. Таким образом, ДНК ВГВ обнаружили у 61,29 % РНК ВИЧ-позитивных лиц, то есть у 7,94 % пациентов с какими-либо маркерами ВИЧ-инфекции, что составило 0,87 % от всей обследованной группы. Следует отметить, что полученные нами высокие показатели распространенности СкГВ среди ВИЧ-инфицированных пациентов отражают предположение о наиболее высоких показателях встречаемости ВИЧ/ВГВ в странах Западной и Южной Африки [16]. Так, частота выявления коинфекции ВИЧ/ВГВ в Южной Африке достигала 30 % [17].

Учитывая то, что обследованная нами группа представлена донорами крови и пациентами, проходящими диспансеризацию, а также то, что у данных лиц ВИЧ выявлен впервые, можно предположить как значительно большую распространенность коинфекции ВИЧ/ВГВ в группах риска, так и высокую частоту встречаемости HBsAg-позитивного и HBsAg-негативного ВГВ среди лиц, живущих с ВИЧ на протяжении длительного периода.

Для всех 19 образцов ВИЧ/ВГВ получены нуклеотидные последовательности фрагмента генома ВИЧ, кодирующие протеазу и участок обратной транскриптазы.

Филогенетические отношения между исследованными образцами ВИЧ и референсными последовательностями из международной базы данных GenBank представлены на рис. 1.

Обращает на себя внимание образец 1170, отделившийся на филогенетическом древе от основной ветви CRF02_AG. Мы сочли необходимым проанализировать этот изолят дополнительно с использованием программы REGA HIV-1 Subtyping Tool 3.0. (рис. 2).

Анализ нуклеотидной последовательности гена *pol* образца 1170 с помощью инструмента субтипирования REGA HIV-1 показал, что образец является рекомбинантом генотипов A1 и G, но не относится к CRF02_AG.

Для выявления возможной рекомбинации об-

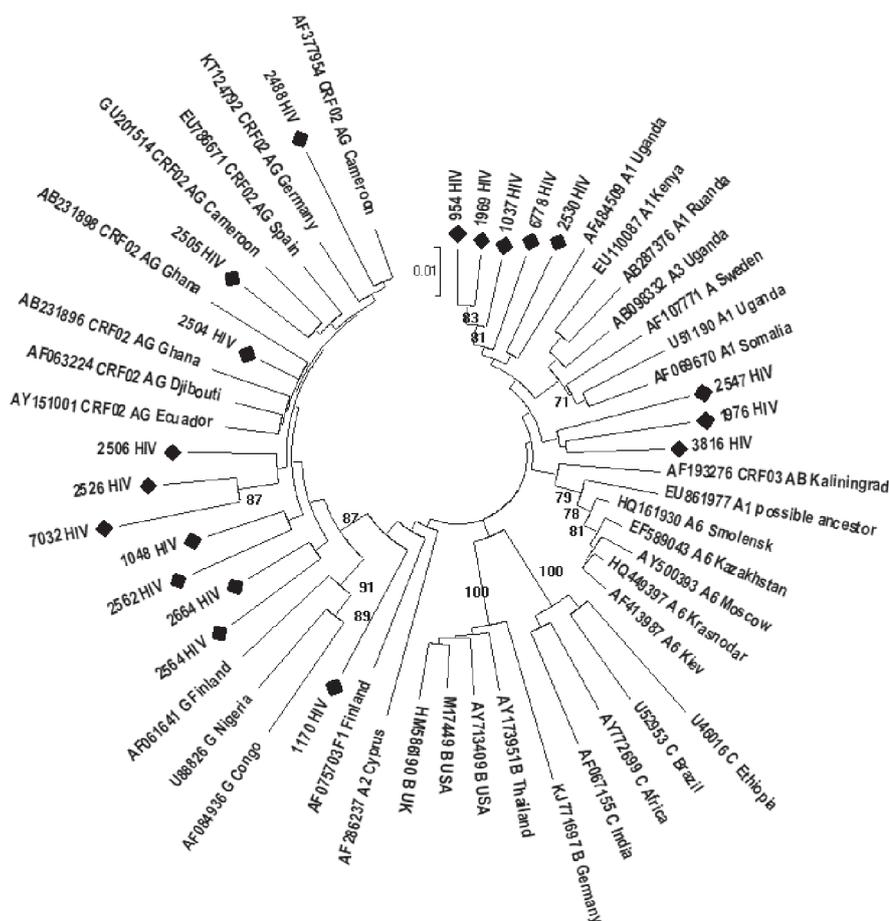


Рис. 1. Филогенетический анализ нуклеотидных последовательностей фрагмента гена pol ВИЧ, выделенных от ВИЧ/ВГВ-инфицированных пациентов, проживающих на территории Гвинейской Республики, в сравнении с представленными в международной базе данных GenBank референсными последовательностями. Референсные последовательности обозначены кодами GenBank с указанием генотипа и региона происхождения образца. Ромбами обозначены образцы, исследованные в настоящей работе. Даны значения bootstrap ≥ 70

Fig. 1. Phylogenetic analysis of nucleotide sequences of the HIV pol gene fragment isolated from HIV/HBV-infected patients living in the Republic of Guinea in comparison with reference sequences presented in the GenBank. Reference sequences are indicated by the GenBank codes indicating the genotype and origin of the sample. Diamonds indicate the samples studied in this work. Bootstrap values are ≥ 70

разцов 1976, 2547 и 3816 также выполняли анализ с использованием программы REGA HIV-1 Subtyping Tool 3.0, что позволило отнести указанные образцы к ВИЧ A1.

Таким образом, на основании анализа нуклеотидных последовательностей 19 образцов показано, что в обследованной группе преобладает циркулирующая рекомбинантная форма ВИЧ CRF02_AG (52,63 %) по сравнению с ВИЧ A1 (42,1 %), один образец представлял собой независимый рекомбинант генотипов A1 и G.

При оценке встречаемости мутаций лекарственной устойчивости генетическая резистентность к каким-либо препаратам выявлена у 21,05 % пациентов, несмотря на отсутствие какой-либо терапии. Отметим, что в трех случаях выявлена только одна мутация фармакорезистентности к НеНИОТ. В двух случаях – мутация E138 (E138A в образце 1976-A1 и E138Q/G в образце 2562-CRF02_AG), снижающая восприимчивость к этравирину, рилпивирину, невирапину. В одном случае – V106I (в образце 2547-A1), снижающая чувствительность к DOR, особенно в сочетании с другими DRM, ассоциированными с устойчивостью к НеНИОТ. В образце 7032, типированном как CRF02_AG, выявлены шесть мутаций обратной транскриптазы, приводящих к лекарственной устойчивости, в том числе четыре к НИОТ (M41ML, A62AV, K65R, M184V) и две к НеНИОТ (K103N, V108I), за счет чего вирус устойчив к большинству

препаратов, кроме зидовудина, этравирин и рилпивирин. Крайне высокая встречаемость мутаций лекарственной устойчивости у АРВТ-наивных ВИЧ-инфицированных лиц показана в Сьерра-Леоне, что связывают с перебоями в работе служб по борьбе с ВИЧ во время эпидемия лихорадки Эбола в 2014–2016 гг., так как исследование, проводившееся в близком географическом регионе (Либерия) до эпидемии демонстрировало значительно более низкую встречаемость таких случаев [18].

Для всех 19 образцов ВИЧ/ВГВ получены нуклеотидные последовательности полного генома ВГВ. Нуклеотидные последовательности полных геномов исследованных в данной работе изолятов ВГВ депонированы в международную базу данных GenBank под номерами MN507835–MN507853.

При филогенетическом анализе ВГВ в исследуемых образцах показано, что в группе ВГВ генотипа E и генотипа D представлены в равных долях (47,36 %), в единичном случае обнаружен ВГВ генотипа A (5,26 %). При этом генотип A представлен субгенотипом A2, а генотип D субгенотипами D1, D2 и D3. Таким образом, в группе преобладает ВГВ генотипа E – 47,36 %, по сравнению с ВГВ D1 – 21,05 %, D2 – 15,78 %, D3 – 10,52 % и A2 – 5,26 %. Филогенетические отношения между исследованными изолятами ВГВ, полученными от ВИЧ-инфицированных пациентов из Гвинейской Республики, и референсными последовательностями

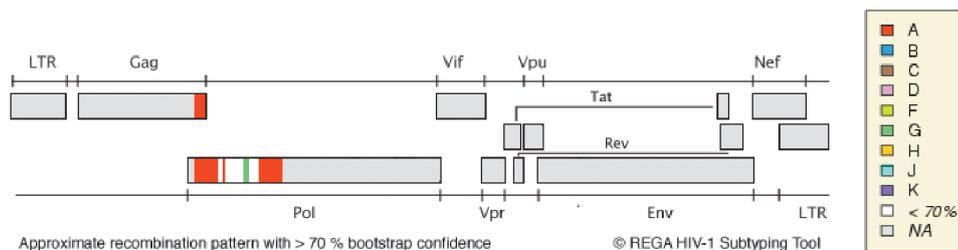
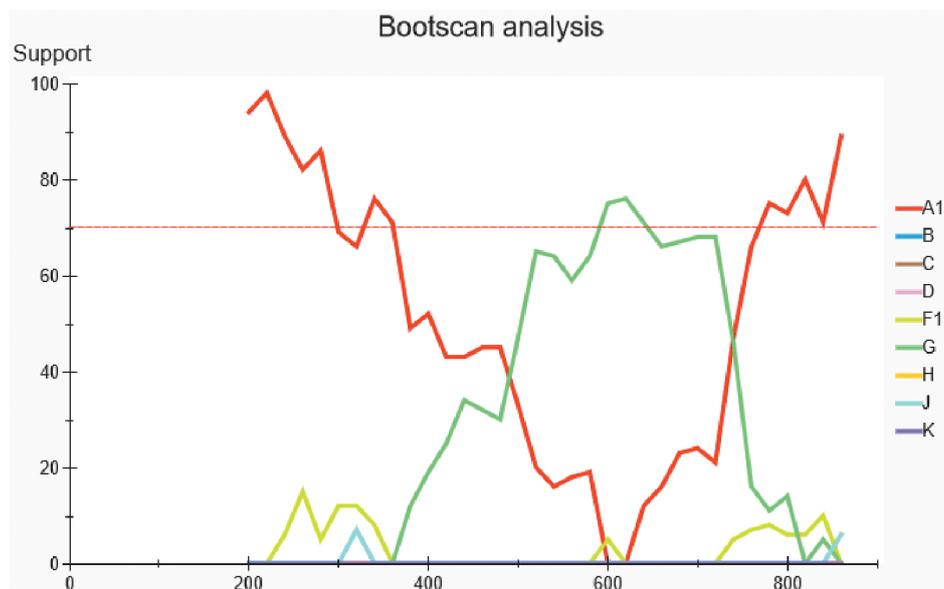


Рис. 2. Анализ рекомбинации последовательности гена *pol* образца 1170 с использованием инструмента генотипирования REGA HIV-1 Subtyping Tool 3.0. Графическое представление событий рекомбинации, разработанных REGA HIV-1 Subtyping Tool 3.0

Fig. 2. Analysis of recombination of the sample 1170 *pol* gene sequence using the REGA HIV-1 Subtyping Tool 3.0. Graphical representation of recombination events developed by REGA HIV-1 Subtyping Tool 3.0



ми из международной базы данных GenBank представлены на рис. 3.

Отметим, что и генотип E, и генотип D выявлялись как среди HBsAg-негативных, так и среди HBsAg-положительных образцов.

Серологический подтип ВГВ определяли на основе аминокислотной последовательности HBsAg. Серотип ауw2 представлен в 31,57 %, ауw3 – 15,78 %, ауw4 – 47,36 %, адw2 – 5,26 % случаев. В соответствии с генотипами ауw3 показан только для ВГВ D2, ауw4 только для ВГВ E, адw2 у единственного образца генотипа ВГВ A2, ауw2 у ВГВ D1 и D3.

Нуклеотидная последовательность ВГВ при скрытой форме течения заболевания, как правило, не отличается от нуклеотидной последовательности вируса так называемого «дикого типа» при HBsAg-положительной форме. В обследуемой нами группе среди образцов ВГВ выявлены мутации SHB у 84,21 %, мутации Core у 94,73 %, мутации PreCore у 15,78 % пациентов. Наиболее распространенной мутацией SHB являлась замена T127P (31,57%), причем встречалась мутация только среди ВГВ генотипа D. По данным исследователей из Ирана, T127P является так называемым *escaper*-мутантом, приводящим к продукции поверхностного антигена, отличающегося от обычного [19]. Привлекают внимание два образца с сочетанием мутаций в регионе SHB – T127P S204R – ранее такое сочетание совместно с мутацией F170FL было описано у HBsAg-негативного

пациента с реактивацией ВГВ через 3 месяца после приостановки длительной профилактики ламивудином [20]. Высказано предположение, что эти мутации могут препятствовать распознаванию HBsAg в диагностическом анализе.

Мутация Core L116I выявлена у 94,73 % пациентов, T146N у всех ВГВ генотипа E. Следует отметить, что мутация Core L116I ассоциирована с прогрессированием заболевания, развитием цирроза и гепатоцеллюлярной карциномы [21]. Мутация PreCore K21N обнаружена у HBsAg-негативного ВГВ D3, PreCore G29D у ВГВ генотипа E, PreCore H5D у HBsAg-негативного ВГВ генотипа E. Для PreCore G29D ассоциация с развитием гепатоцеллюлярной карциномы [21]. Ни один из пациентов не обладал первичными мутациями устойчивости к лекарственным препаратам против ВГВ, однако в двух образцах ВГВ генотипа E выявлены по одной мутации на установленных позициях лекарственной устойчивости обратной транскриптазы – 80F и 202R, которые предположительно могут нарушать восприимчивость к ламивудину, телбивудину и энтекавиру соответственно.

Генотипы ВИЧ и ВГВ не коррелировали друг с другом, не выявлено отличий между встречаемостью HBsAg-негативного ВГВ в тех или иных геновариантах ВИЧ в нашей группе. Только в одном случае (образец 7032) одновременно выявлены мутации лекарственной устойчивости ВИЧ и ВГВ.

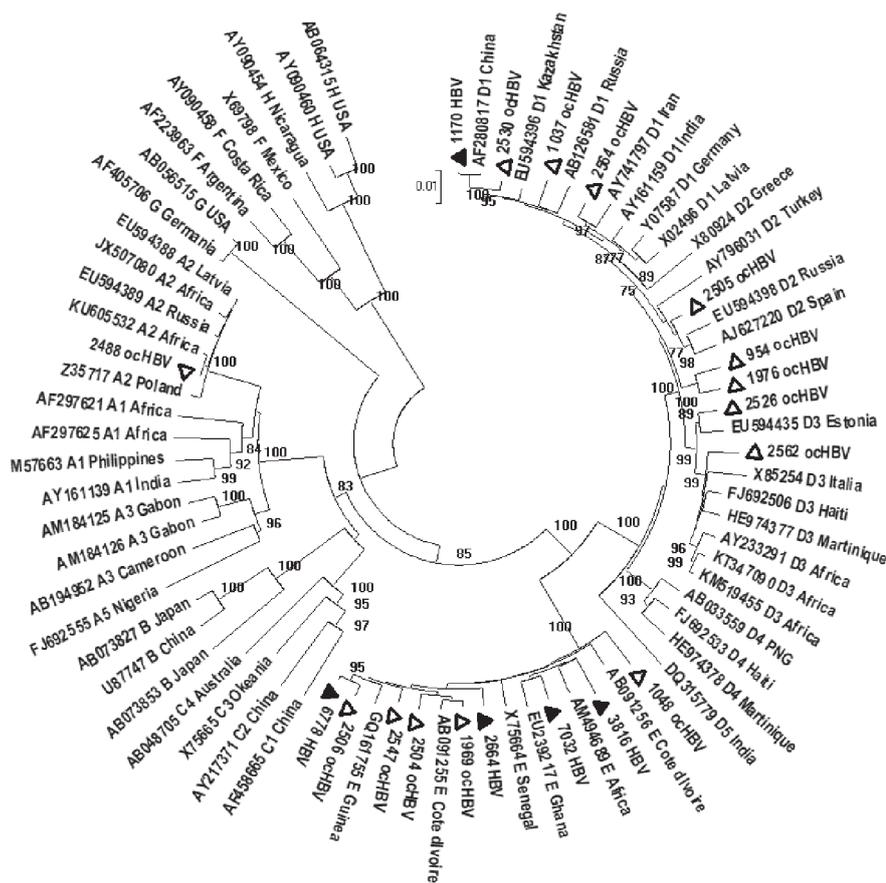


Рис. 3. Филогенетический анализ нуклеотидных последовательностей полных геномов ВГВ, выделенных от ВИЧ/ВГВ-коинфицированных пациентов, проживающих на территории Гвинейской Республики в сравнении с представленными в международной базе данных GenBank референсными последовательностями. Референсные последовательности обозначены кодами GenBank с указанием генотипа и региона происхождения образца. Черными треугольниками обозначены HBsAg-положительные образцы, исследованные в настоящей работе, белыми треугольниками обозначены HBsAg-негативные образцы, исследованные в настоящей работе. Даны значения bootstrap ≥ 70

Fig. 3. Phylogenetic analysis of the nucleotide sequences of the complete HBV genomes isolated from HIV/HBV-infected patients residing in the Republic of Guinea in comparison with the reference sequences presented in the GenBank. Reference sequences are indicated by the GenBank codes indicating the genotype and origin of the sample. Black triangles denote HBsAg-positive samples, white triangles denote HBsAg-negative samples studied in this work. Bootstrap values are ≥ 70

Высокая распространенность HBsAg-негативного ВГВ среди ВИЧ-инфицированных пациентов является серьезной проблемой, поскольку повышает риск возможных осложнений при ВИЧ-инфекции, таких как острая печеночная недостаточность, цирроз, гепатоцеллюлярная карцинома. Выявление мутаций лекарственной устойчивости как ВИЧ, так и ВГВ у АРВТ-наивных пациентов подчеркивают необходимость реализации программ эпиднадзора за ВИЧ-инфицированными, а также планового тестирования на ВГВ и лекарственную устойчивость ВИЧ и ВГВ перед началом антиретровирусной терапии при клиническом ведении пациентов в стране.

Необходимы более масштабные исследования, чтобы помочь в разработке национальных руководств по АРВТ и клинического мониторинга ВГВ и ВИЧ-инфицированных пациентов в Гвинейской Республике.

Авторы подтверждают, что от всех участников исследования либо их законных представителей (для несовершеннолетних) было получено информированное согласие.

Конфликт интересов. Авторы подтверждают отсутствие конфликта финансовых/нефинансовых интересов, связанных с написанием статьи.

Список литературы

1. Покровский В.В. ВИЧ/СПИД в России: ситуация и прогноз. *Эпидемиология и инфекционные болезни*. 2008; 3:4–7.
2. Alberti A., Pontisso P., Chemello L., Fattovich G., Benvegnù L., Belussi F., De Mitri M.S. The interaction between hepatitis B virus and hepatitis C virus in acute and chronic liver disease. *J. Hepatol.*

- 2005; 22:38–41. PMID: 7602074.
3. Schweitzer A., Horn J., Mikolajczyk R.T., Krause G., Ott J.J. Estimations of worldwide prevalence of chronic hepatitis B virus infection: a systematic review of data published between 1965 and 2013. *Lancet*. 2015; 386(10003):1546–55. DOI: 10.1016/S0140-6736(15)11412-X.
4. Мукомолов С.Л., Левакова И.А. Эпидемиологическая характеристика хронических вирусных гепатитов в Российской Федерации в 1999–2009 гг. *Инфекция и иммунитет*. 2011; 1(3):255–62. DOI: 10.15789/2220-7619-2011-3-255-262.
5. Modi A.A., Feld J.J. Viral hepatitis and HIV in Africa. *AIDS Rev*. 2007; 9:25–39. PMID: 17474311.
6. Squadrito G., Cacciola I., Alibrandi A., Pollicino T., Raimondo G. Impact of occult hepatitis B virus infection on the outcome of chronic hepatitis C. *J. Hepatol.* 2013; 59(4):696–700. DOI: 10.1016/j.jhep.2013.05.043.
7. Raimondo G., Allain J. P., Brunetto M. R., Buendia M. A., Chen D. S., Colombo M., Craxi A., Donato F., Ferrari C., Gaeta G. B., Gerlich W. H., Levrero M., Locarnini S., Michalak T., Mondelli M. U., Pawlotsky J. M., Pollicino T., Prati D., Puoti M., Samuel D., Shouval D., Smedile A., Squadrito G., Trepo C., Villa E., Will H., Zanetti A. R., Zoulim F. Statements from the Taormina expert meeting on occult hepatitis B virus infection. *J. Hepatol.* 2008; 49:652–7. DOI: 10.1016/j.jhep.2008.07.014.
8. Dandri M., Locarnini S. New insight in the pathobiology of hepatitis B virus infection. *Gut*. 2012; 61(Suppl 1):i6–17. DOI: 10.1136/gutjnl-2012-302056.
9. Torbenson M., Thomas D.L. Occult hepatitis B. *Lancet Infect. Dis.* 2002; 2(8):479–86. DOI: 10.1016/S1473-3099(02)00345-6.
10. Guo J.T., Guo H. Metabolism and function of hepatitis B virus cccDNA: Implications for the development of cccDNA-targeting antiviral therapeutics. *Antiviral Res.* 2015; 122:91–100. DOI: 10.1016/j.antiviral.2015.08.005.
11. Harrison T.J. Hepatitis B virus: molecular virology and common mutants. *Semin. Liver Dis.* 2006; 26(2):87–96. DOI: 10.1055/s-2006-939754.
12. Lin C.L., Kao J.H. Hepatitis B virus genotypes and variants. *Cold Spring Harb. Perspect. Med.* 2015; 5(5):a021436. DOI: 10.1101/cshperspect.a021436.
13. Leelawiwat W., Pattanasin S., Siriporn A., Wasinrapee P., Kongpechsatit O., Mueanpai F., Tongtoyai J., Holtz T.H., Curlin M.E. Association between HIV genotype, viral load and disease progression in a cohort of Thai men who have sex with men with estimated dates of HIV infection. *PLoS One*. 2018; 13(7):e0201386. DOI: 10.1371/journal.pone.0201386.

14. Останкова Ю.В., Семенов А.В., Тотолян Арег А. Способ выявления в биологическом материале ДНК вируса гепатита В при низкой вирусной нагрузке на основе двухэтапной ПЦР. Патент РФ № 2633755, опублик. 17.10.2017 г. Бюл. № 29.

15. Kumar S., Stecher G., Tamura K. MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 7.0 for bigger datasets. *Mol. Biol. Evol.* 2016; 33(7): 1870–4. DOI: 10.1093/molbev/msw054.

16. Singh K.P., Crane M., Audsley J., Avihingsanon A., Sasadeusz J., Lewin S.R. HIV-Hepatitis B virus co-infection: epidemiology, pathogenesis and treatment. *AIDS*. 2017; 31(15):2035–52. DOI: 10.1097/QAD.0000000000001574.

17. Powell E.A., Gededzha M.P., Rentz M., Rakgole N.J., Selabe S.G., Seleise T.A., Mphahlele M.J., Blackard J.T. Mutations associated with occult hepatitis B in HIV-positive South Africans. *J. Med. Virol.* 2015; 87(3):388–400. DOI: 10.1002/jmv.24057.

18. Yendewa G.A., Sahr F., Lakoh S., Ruiz M., Patiño L., Tabernilla A., Deen G.F., Sesay M., Salata R.A., Poveda E. Prevalence of drug resistance mutations among ART-naïve and -experienced HIV-infected patients in Sierra Leone. *J. Antimicrob. Chemother.* 2019; 74(7):2024–9. DOI: 10.1093/jac/dkz134.

19. Rastegarvand N., Makvandi M., Samarbafzadeh A., Rasti M., Neisi N., Pouremamali A., Teimoori A., Shabani A. Molecular Characterization of Pre-Core/Core and S Region of Hepatitis B Virus in Hemodialysis Patients With Occult Hepatitis B Infection. *Jundishapur. J. Microbiol.* 2015; 8(10):e23686. DOI: 10.5812/jjm.23686.

20. Cerva C., Maffongelli G., Svicher V., Salpini R., Colagrossi L., Battisti A., Mariotti B., Cerretti R., Cudillo L., Sarmati L. Hepatitis B reactivation characterized by HBsAg negativity and anti-HBsAg antibodies persistence in haematopoietic stem cell transplanted patient after lamivudine withdrawal. *BMC Infect. Dis.* 2017; 17:566. DOI: 10.1186/s12879-017-2672-6.

21. Al-Qahtani A.A., Al-Anazi M.R., Nazir N., Abdo A.A., Sanai F.M., Al-Hamoudi W.K., Alswat K.A., Al-Ashgar H.I., Khan M.Q., Albenmoussa A., El-Shamy A., Alanazi S.K., Dela Cruz D., Bohol M.F.F., Al-Ahdal M.N. The Correlation Between Hepatitis B Virus Precore/Core Mutations and the Progression of Severe Liver Disease. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 2018; 8:355. DOI: 10.3389/fcimb.2018.00355.

References

1. Pokrovsky V.V. HIV/AIDS in Russia: situation and prognosis. *Epidemiologiya i Infekcionnye Bolezni [Epidemiology and Infectious Diseases]*. 2008; 3:4–7.

2. Alberti A., Pontisso P., Chemello L., Fattovich G., Benvegñù L., Belussi F., De Mitri M.S. The interaction between hepatitis B virus and hepatitis C virus in acute and chronic liver disease. *J. Hepatol.* 2005; 22:38–41. PMID: 7602074.

3. Schweitzer A., Horn J., Mikolajczyk R.T., Krause G., Ott J.J. Estimations of worldwide prevalence of chronic hepatitis B virus infection: a systematic review of data published between 1965 and 2013. *Lancet.* 2015; 386(10003):1546–55. DOI: 10.1016/S0140-6736(15)61412-X.

4. Mukomolov S.L., Levakova I.A. Epidemiological characteristics of chronic viral hepatitis in the Russian Federation in 1999–2009. *Infekciya i Immunitet [Russian Journal of Infection and Immunity]*. 2011; 1(3):255–62. DOI: 10.15789/2220-7619-2011-3-255-262.

5. Modi A.A., Feld J.J. Viral hepatitis and HIV in Africa. *AIDS Rev.* 2007; 9:25–39. PMID: 17474311.

6. Squadrito G., Cacciola I., Alibrandi A., Pollicino T., Raimondo G. Impact of occult hepatitis B virus infection on the outcome of chronic hepatitis C. *J. Hepatol.* 2013; 59(4):696–700. DOI: 10.1016/j.jhep.2013.05.043.

7. Raimondo G., Allain J. P., Brunetto M. R., Buendia M. A., Chen D. S., Colombo M., Craxi A., Donato F., Ferrari C., Gaeta G. B., Gerlich W. H., Levvero M., Locarnini S., Michalak T., Mondelli M. U., Pawlotsky J. M., Pollicino T., Prati D., Puoti M., Samuel D., Shouval D., Smedile A., Squadrito G., Trepo C., Villa E., Will H., Zanetti A. R., Zoulim F. Statements from the Taormina expert meeting on occult hepatitis B virus infection. *J. Hepatol.* 2008; 49:652–7. DOI: 10.1016/j.jhep.2008.07.014.

8. Dandri M., Locarnini S. New insight in the pathobiology of hepatitis B virus infection. *Gut.* 2012; 61(Suppl 1):i6–17. DOI: 10.1136/gutjnl-2012-302056.

9. Torbenson M., Thomas D.L. Occult hepatitis B. *Lancet Infect. Dis.* 2002; 2(8):479–86. DOI: 10.1016/S1473-3099(02)00345-6.

10. Guo J.T., Guo H. Metabolism and function of hepatitis B virus cccDNA: Implications for the development of cccDNA-tar-

geting antiviral therapeutics. *Antiviral Res.* 2015; 122:91–100. DOI: 10.1016/j.antiviral.2015.08.005.

11. Harrison T.J. Hepatitis B virus: molecular virology and common mutants. *Semin. Liver Dis.* 2006; 26(2):87–96. DOI: 10.1055/s-2006-939754.

12. Lin C.L., Kao J.H. Hepatitis B virus genotypes and variants. *Cold Spring Harb. Perspect. Med.* 2015; 5(5):a021436. DOI: 10.1101/cshperspect.a021436.

13. Leelawiwat W., Pattanasin S., Sriporn A., Wasinrapee P., Kongpechsatit O., Mueanpai F., Tongtoyai J., Holtz T.H., Curlin M.E. Association between HIV genotype, viral load and disease progression in a cohort of Thai men who have sex with men with estimated dates of HIV infection. *PLoS One.* 2018; 13(7):e0201386. DOI: 10.1371/journal.pone.0201386.

14. Ostankova Yu.V., Semenov AV, Totolyan Areg A. A method for detecting hepatitis B virus in biological material with a low viral load based on a two-stage PCR. Patent 2633755 of the Russian Federation.

15. Kumar S., Stecher G., Tamura K. MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 7.0 for bigger datasets. *Mol. Biol. Evol.* 2016; 33(7): 1870–4. DOI: 10.1093/molbev/msw054.

16. Singh K.P., Crane M., Audsley J., Avihingsanon A., Sasadeusz J., Lewin S.R. HIV-Hepatitis B virus co-infection: epidemiology, pathogenesis and treatment. *AIDS*. 2017; 31(15):2035–52. DOI: 10.1097/QAD.0000000000001574.

17. Powell E.A., Gededzha M.P., Rentz M., Rakgole N.J., Selabe S.G., Seleise T.A., Mphahlele M.J., Blackard J.T. Mutations associated with occult hepatitis B in HIV-positive South Africans. *J. Med. Virol.* 2015; 87(3):388–400. DOI: 10.1002/jmv.24057.

18. Yendewa G.A., Sahr F., Lakoh S., Ruiz M., Patiño L., Tabernilla A., Deen G.F., Sesay M., Salata R.A., Poveda E. Prevalence of drug resistance mutations among ART-naïve and -experienced HIV-infected patients in Sierra Leone. *J. Antimicrob. Chemother.* 2019; 74(7):2024–9. DOI: 10.1093/jac/dkz134.

19. Rastegarvand N., Makvandi M., Samarbafzadeh A., Rasti M., Neisi N., Pouremamali A., Teimoori A., Shabani A. Molecular Characterization of Pre-Core/Core and S Region of Hepatitis B Virus in Hemodialysis Patients With Occult Hepatitis B Infection. *Jundishapur. J. Microbiol.* 2015; 8(10):e23686. DOI: 10.5812/jjm.23686.

20. Cerva C., Maffongelli G., Svicher V., Salpini R., Colagrossi L., Battisti A., Mariotti B., Cerretti R., Cudillo L., Sarmati L. Hepatitis B reactivation characterized by HBsAg negativity and anti-HBsAg antibodies persistence in haematopoietic stem cell transplanted patient after lamivudine withdrawal. *BMC Infect. Dis.* 2017; 17:566. DOI: 10.1186/s12879-017-2672-6.

21. Al-Qahtani A.A., Al-Anazi M.R., Nazir N., Abdo A.A., Sanai F.M., Al-Hamoudi W.K., Alswat K.A., Al-Ashgar H.I., Khan M.Q., Albenmoussa A., El-Shamy A., Alanazi S.K., Dela Cruz D., Bohol M.F.F., Al-Ahdal M.N. The Correlation Between Hepatitis B Virus Precore/Core Mutations and the Progression of Severe Liver Disease. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 2018; 8:355. DOI: 10.3389/fcimb.2018.00355.

Authors:

Shchemelev A.N., Ostankova Yu.V., Zueva E.B., Semenov A.V. Saint-Petersburg Pasteur Institute. 14, Mira St., Saint-Petersburg Pasteur Institute, 197101, Russian Federation.

Boumbaly S. Research Institute of Applied Biology; Kindia, Republic of Guinea. International Tropical Infections Research Center, N'Zerekore, Republic of Guinea. N'Zerekore, Republic of Guinea. BP 146 Kindia.

Balde T.A.L. Research Institute of Applied Biology. Kindia, Republic of Guinea. BP 146 Kindia.

Об авторах:

Щемелев А.Н., Останкова Ю.В., Зуева Е.Б., Семенов А.В. Санкт-Петербургский НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера. Российская Федерация, 197101, Санкт-Петербург, ул. Мира, д. 14. E-mail: pasteur@pasteurorg.ru.

Boumbaly S. Научно-исследовательский институт прикладной биологии Гвинеи; Гвинейская Республика, Киндия. Международный исследовательский центр по тропическим инфекциям в Гвинеи. Гвинейская Республика, Н'Зерекоре.

Balde T.A.L. Научно-исследовательский институт прикладной биологии Гвинеи. Гвинейская Республика, Киндия. 146 Kindia.

Поступила 25.09.19.

Принята к публ. 26.09.19.