

«Элиминация кори и краснухи: Основы процесса верификации в Европейском регионе ВОЗ», в которых подчеркнуто, что ключевыми компонентами стандартизованной оценки для подтверждения прекращения эндемической циркуляции вирусов кори и краснухи в стране должны являться: детальная информация об эпидемиологии кори и краснухи, результаты вирусологического надзора с использованием методов молекулярной эпидемиологии, анализ когорт иммунизированных групп населения, качество надзора и устойчивость национальной программы иммунизации. Планируется, что анализ и оценка ежегодных национальных отчетов будет осуществляться в каждой стране в течение, по крайней мере, трех лет после того, как Региональная комиссия по верификации элиминации кори и краснухи подтвердит, что, в соответствии с установленными критериями, эндемичная циркуляция вирусов кори и краснухи была прекращена во всех государствах—членах Европейского региона.

Вполне возможно, что элиминация кори и краснухи может быть достигнута в разные сроки. В таком случае верификация этих двух событий будет произведена отдельно и в разные сроки.

Процесс элиминации кори может быть длительным, и в отдельные годы может наблюдаться подъем заболеваемости, как это наблюдается на Американском континенте, который элиминировал корь в 2010 году и в 2013 году верифицировал этот процесс. При этом, вспышки инфекции были ограничены во времени и не требовали проведения дополнительных прививочных кампаний. Достижение элиминации кори в каждой отдельно взятой стране приведет к глобальной ликвидации инфекции.

Исходя из задач Европейского региона в Российской Федерации разработана третья Программа, направленная на элиминацию кори и краснухи к 2020 году, основной задачей которой является достижение достоверно высокого уровня охвата населения прививками ЖКВ.

Поступила 23.03.16

Контактная информация: Цвиркун Ольга Валентиновна, д.м.н.,
125212, Москва, ул.Адмирала Макарова, 10, р.т. (495)452-18-09

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2016

Ю.В.Останкова¹, А.В.Семенов^{1,2,3}, Х.Н.Файзуллаев⁴,
Е.И.Казакова⁴, А.В.Козлов³, Э.И.Мусабаев⁴, Арег А.Томолян^{1,2}

МОЛЕКУЛЯРНО-БИОЛОГИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ ГЕПАТИТА В У ПАЦИЕНТОВ С ФИБРОЗОМ/ЦИРРОЗОМ ПЕЧЕНИ В УЗБЕКИСТАНЕ

¹НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера, ²Государственный медицинский университет им. И.П.Павлова, ³Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И.Мечникова, С.-Петербург, ⁴НИИ вирусологии, Ташкент, Узбекистан

Цель. Оценить распространенность генетических вариантов вируса гепатита В у жителей из различных регионов Узбекистана, страдающих гепатитами разного генеза с различной степенью выраженности фиброза печени и циррозом. **Материалы и методы.** Материалом исследования служили плазма крови и биоптаты печени 39 пациентов с различной степенью выраженности фиброза печени и циррозом. Было применено генотипирование на основе прямого секвенирования Pre-S1/Pre-S2/S области ДНК ВГВ. **Результаты.** Вирус гепатита В был выявлен в 32 образцах из представленных 39, частота встречаемости — 82% соответственно. На основании филогенетического анализа показано, что среди обследованных больных выявлен только генотип D, преобладал вирус гепатита В субтипа D1 (84,38%) по сравнению с субтипами D2 (3,12%) и D3 (12,5%). **Заключение.**

Масштабное скринирование ВГВ в Центральной Азии позволит оценить пути распространения и время эволюционного разделения изолятов вируса. Понимание эпидемиологии инфекционного процесса важно для разработки программ по профилактике и лечению инфекции.

Журн. микробиол., 2016, № 5, С. 34—43

Ключевые слова: гепатит В, глубокое генотипирование, секвенирование, молекулярная эпидемиология, Узбекистан

*Yu. V. Ostankova¹, A. V. Semenov^{1,2,3}, Kh. N. Faizullaev⁴,
E. I. Kazakova⁴, A. V. Kozlov³, E. I. Musabaev⁴, Areg A. Totolyan^{1,2}*

MOLECULAR-BIOLOGICAL MARKERS OF HEPATITIS B IN PATIENTS WITH LIVER FIBROSIS/CIRRHOSIS IN UZBEKISTAN

¹Pasteur Research Institute of Epidemiology and Microbiology, ²Pavlov State Medical University, ³Mechnikov North-Western State Medical University, St. Petersburg, Russia; ⁴Research Institute of Virology, Tashkent, Uzbekistan

Aim. Evaluate prevalence of genetic variants of hepatitis B viruses in population of various regions of Uzbekistan with hepatitis of various genesis and different severity levels of liver fibrosis and cirrhosis. *Materials and methods.* Blood plasma and liver biopsy from 39 patients with different severity levels of liver fibrosis and cirrhosis served as study material. Genotyping based on direct sequencing of Pre-S1/Pre-S2/S HBV DNA region was applied. *Results.* Hepatitis B virus was detected in 32 samples of the 39 provided, frequency of occurrence — 82%, respectively. Phylogenetic analysis has shown, that only genotype D was detected among the examined patients, hepatitis B virus subtype D1 predominated (84.38%) compared with D2 (3.12%) and D3 (12.5%) subtypes. *Conclusion.* Large-scale sequencing of HBV in Central Asia will allow to evaluate routes of transmission and time of evolutionary separation of virus isolates. Understanding the epidemiology of the infectious process is important for development of programs for prophylaxis and therapy of the infection.

Zh. Mikrobiol. (Moscow), 2016, No. 5, P. 34—43

Key words: hepatitis B, deep genotyping, sequencing, molecular epidemiology, Uzbekistan

ВВЕДЕНИЕ

Гепатит В является одним из наиболее распространенных гепатотропных вирусов, передающихся при контакте с кровью или иными жидкостями организма инфицированного человека, поражающих печень и способных вызывать как острое, так и хроническое течение заболевания. Согласно ВОЗ (2012 г.) количество инфицированных вирусом гепатита В в мире составляет почти 2 млрд человек, у более чем 240 миллионов из них развивается хронический вирусный гепатит В (ХВГВ). Вирус гепатита В широко распространен во всем мире и является гиперэндемичным для многих стран Азии, Африки, Южной Европы и Латинской Америки. Наиболее высокая распространенность ВГВ показана в странах Африки к югу от Сахары и в Восточной Азии, где 5 — 10% населения хронически инфицированы. Высокие показатели хронических инфекций отмечаются также в районе Амазонки и южных регионах Центральной и Восточной Европы. На Ближнем Востоке и Индийском субконтиненте хронически инфицированы 2 — 5% населения. Низкая распространенность вируса (<2%) показана для стран Западной Европы и Северной Америки.

Клинические проявления ХВГВ многообразны и зависят в основном от

биологических свойств вируса и его взаимодействия с иммунной системой хозяина. Однако возраст инфекции, 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. ВГВ характеризуется высокой степенью генетической гетерогенности в связи с использованием обратной транскриптазы в процессе репликации вируса. В настоящее время ВГВ подразделяют на десять генотипов, отличающихся друг от друга по составу нуклеотидных последовательностей более чем на 8%, и на 34 субтипа, для которых показано расхождение полных нуклеотидных последовательностей в 4 – 7,5% [18].

Для генотипов и субтипов ВГВ показано разное географическое распределение. Известно, что на большинстве территорий бывшего СССР преобладает ВГВ субтипа D2, также выявлен субтип A2 и в единичных случаях D3 [17]. Анализ генотипов ВГВ в Таджикистане также показал преобладание генотипа D (94,1%) по сравнению с генотипом A (5,8%) [7]. С использованием методов серотипирования и/или с применением метода ПЦР-ПДРФ с типоспецифическими праймерами было показано преобладание ВГВ генотипа D в Узбекистане (87%), в то время как генотип A встречается в Узбекистане с частотой 13% [6]. Позже при оценке программы вакцинации против гепатита В в Узбекистане было показано, что среди детей распространенность ВГВ генотипа D составляет 69%, генотипа А — 23% (в невакцинированной группе) и генотипа С — 8% (в группе вакцинированных), при этом в группе вакцинированных детей передача вируса была только перинатальной, а в группе непривитых детей преобладал горизонтальный путь инфицирования [2].

Центральной страной Средней Азии является Узбекистан, для которого, как и для всего региона, показана высокая частота встречаемости ВГВ. Распространенность положительного HBsAg среди населения Узбекистана составляет 13,3% [15]. Было показано, что в 2010 году пятое место в мире по смертности от вирусного цирроза занимает Кыргызстан, а Узбекистан и Туркменистан — седьмое и восьмое соответственно [Mokdad A.A. et al., 2014]. В связи с тем, что одним из предполагаемых путей распространения вируса является трудовая миграция жителей стран Средней Азии в другие страны и, в том числе, в Российскую Федерацию, представляется очевидной необходимость оценки молекулярно-эпидемиологической ситуации в регионе.

Определение генотипов и субтипов ВГВ важно для лучшего понимания эпидемиологических и вирусологических особенностей заболевания, а также предоставляет дополнительную информацию для принятия решения о выборе тактики противовирусной терапии. Прямое секвенирование нуклеотидной последовательности является золотым стандартом для классификации генотипов и субгенотипов ВГВ [5].

В настоящем исследовании мы применили генотипирование на основе прямого секвенирования Pre-S1/Pre-S2/S области ДНК ВГВ для оценки распространенности генетических вариантов ВГВ у жителей Узбекистана, страдающих гепатитами с выраженным фиброзом и циррозом печени, в том числе компенсированным и декомпенсированным.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалом исследования служили плазма крови и биоптаты печени 39 пациентов с различной степенью выраженности фиброза печени и циррозом. У 21 больного (54%) были выявлены клинические проявления цирроза пече-

ни по шкале Чайлд-Пью. У остальных больных выраженность фиброза превышала F2 стадию. Все больные поступили в отделение гепатологии клиники института вирусологии МЗ Республики Узбекистан в 2013 — 2015 гг. Обследуемая группа включала: 17 пациентов с ХВГВ при выявленных в крови ДНК ВГВ и HBsAg; 4 пациента с ХВГВ + D, в крови которых выявлена РНК вируса гепатита D (ВГD) и/или антитела к ВГD при отрицательной ДНК ВГВ; 2 пациентов с коинфекцией вируса гепатита С (ВГС) с ВГВ с выявленными в крови антителами к ВГС и HBsAg; 11 пациентов с ХВГС, в крови которых выявлена РНК ВГС и/или антитела к ВГС; 5 пациентов с гепатитом неясной этиологии. В группу вошли 30 мужчин и 9 женщин в возрасте от 19 до 65 лет из 13 различных городов Республики и Южного Казахстана (Чимкент, Ташкент, Наманган, Джизак, Кашкадарья, Сырдарья, Сурхондарья, Хорезм, Самарканд, Фергана, Андижан, Каракалпакстан, Бухара).

Выделение ДНК из плазмы крови и пункционных биоптатов печени проводили в соответствии с методикой, приведенной в руководстве Sambrook et al. (1989) с некоторыми модификациями.

Для ПЦР с последующим секвенированием использовали перекрывающиеся пары праймеров, совместно фланкирующие фрагмент протяженностью 1475 пар оснований (п.о.), включающий рекомендованную для генотипирования ВГВ регион Pre-S1/Pre-S2/S протяженностью 1169 п.о. область 2848 — 3182 ... 1 — 835 нт., согласно представленному в международной базе данных GenBank изоляту Mart-B47 (HE974377.1) [4].

Состав амплификационной смеси: 15 пмоль/л каждого олигопраймера, 1 ммоль/л каждого нуклеозидтрифосфата, 6,7 ммоль/л $MgCl_2$, 1 ед. рекомбинантной Taq ДНК-полимеразы (Fermentas), буфер для Taq ДНК-полимеразы (750 ммоль/л Трис-HCl, pH 8,8), 200 ммоль/л $(NH_4)_2SO_4$, 0,1% (v/v) твин 20), DMSO 10% от конечного объема, 1 мкг матрицы, вода без нуклеаз до конечного объема 25 мкл. ПЦР проводили при следующих условиях: после денатурации при 95°C в течение 5 минут устанавливали 35 циклов амплификации в режиме: 95°C — 20 сек, 55°C — 58°C — 20 сек, 72°C — 60 сек; затем финальная элонгация при 72°C — 5 мин. Качество ПЦР определяли визуально в 2% агарозном геле (120 В, 40 мин; 1xTBE), окрашенном бромистым этидием.

Продукты первичной амплификации и секвенирующей реакции очищали по методике, рекомендованной для Qiaquick PCR Purification kit (Qiagen, Germany). Для анализа качества очищения осадок растворяли в 30 мкл TE-буфера и визуализировали в агарозном геле. Концентрацию НК измеряли на флуориметре Qubit 2.0 по стандартной методике. Очищенный фрагмент с концентрацией 50 — 100 нг использовали для постановки секвенирующих реакций с прямого и обратного праймеров с использованием набора Genome Lab DTCS-Quick Start Kit (Beckman Coulter Inc., USA). Для анализа продукта секвенирующей реакции очищенный осадок растворяли в SLS-буфере и помещали в генетический анализатор GenomeLab GeXP (Beckman Coulter Inc., USA).

Первичный анализ полученного фрагмента 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, используя алгоритм ClustalW. Для построения филогенетических деревьев использовали метод UPGMA, bootstrap N=500 [Tamura K. et al., 2011].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

ВГВ был выявлен в 32 образцах из представленных 39, частота встречаемости 82% соответственно. Для всех выявленных образцов была получена нуклеотидная последовательность Pre-S1/Pre-S2/S региона удовлетворительного качества, пригодная для дальнейшего анализа.

Для всех образцов были определены генотип и субтип. На основании филогенетического анализа 32 изолятов показано, что среди обследованных больных, у которых хронический гепатит сопровождался выраженным фиброзом и циррозом печени, был выявлен только генотип D, являющийся наиболее распространенным генотипом ВГВ в Центральной Азии. При этом преобладал ВГВ субтипа D1 (84,38%) по сравнению с ВГВ субтипа D2 (3,12%) и субтипа D3 (12,5%) (рис. 1). При анализе последовательностей фрагмента нуклеотидная идентичность в группе составила $97,65 \pm 0,4\%$.

Показано, что половая принадлежность не относится к значимыми факторам для распределения субтипов ВГВ в обследованной группе, однако может

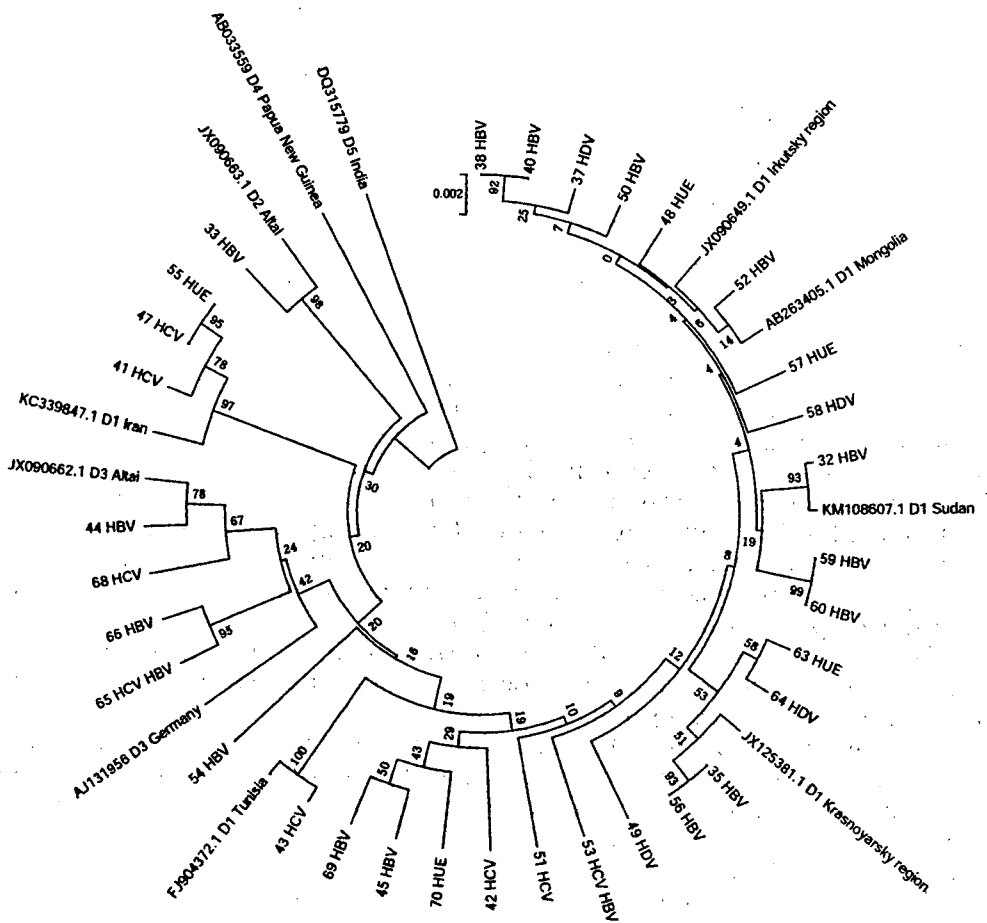


Рис. 1. Дендрограмма, характеризующая филогенетические отношения изолятов ВГВ, выделенных в Узбекистане от пациентов с гепатитами различного генеза с выраженным фиброзом и циррозом печени, в сравнении с представленными в GenBank последовательностями максимально идентичных штаммов ВГВ из других регионов мира.

быть показательным тот факт, что в составе группы, то есть среди обратившихся в клинику в тяжелом состоянии, количество мужчин более чем в три раза превышало количество женщин. Отсутствовала связь генотипа вируса и географического региона Узбекистана. Так, например, пациенты с ВГВ субтипа D3, внутригрупповой процент нуклеотидной идентичности которых составил более 99%, происходили из разных регионов республики: Ташкента, Бухары, Намангана, Чимкента. Что подтверждает связь распространенности тех или иных генотипов и/или субтипов в различных группах с путями передачи, а не с географической близостью.

Выявление в исследуемой группе только ВГВ генотипа D в противоположность ранее показанному в Узбекистане распространению не только генотипа D (77,5%), но также A (15%) и C (7,5%) [1], имеет, вероятно, несколько причин. Одной из них может быть отбор в обследуемую группу пациентов с тяжелыми заболеваниями печени. ВГВ генотипа D способен вызывать более серьезные заболевания, в том числе коррелирует с более тяжелыми заболеваниями печени, и более высокий уровень лекарственной устойчивости по сравнению с другими генотипами этого вируса [8]. При этом известно, что для ВГВ субтипа D1, преобладающего в данной группе, характерна низкая вирусная нагрузка и ранняя сероконверсия HBeAg, что может создавать проблемы для своевременного выявления вируса у пациентов и, в свою очередь, приводить к развитию более тяжелого заболевания печени [11].

В качестве второй причины можно рассматривать введение в 1998 г. вакцинации против гепатита В в Узбекистане. Как уже было сказано выше, оценка результатов вакцинации показала, что в группе вакцинированных детей был распространен только ВГВ субтипа С, причем перинатальным путем передачи вируса. Для невакцинированных был показан горизонтальный путь распространения ВГВ субтипов D и A [2]. В исследуемой нами группе были взрослые люди, родившиеся до введения программы иммунизации, вероятно всего, инфицированные горизонтальным путем передачи вируса, и, очевидно, это также может быть составной частью причины, по которой в исследованной нами группе представлен ВГВ только субтипа D. Еще одной причиной может быть эндемичность ВГВ генотипа D, для субтипов которого показано «прибытие» общего предка из Индии в Центральную Азию, а затем распространение субтипов D1-D3 из Центральной Азии в Европу и Средиземноморье [19].

Следует отметить, что в исследуемой нами группе представлены несколько попарно идентичных штаммов, мы сочли необходимым пристальнее рассмотреть и проанализировать такие пары.

Для этого проводили ПЦР с дополнительными парами праймеров и получали фрагмент общей протяженностью 2274 п.о., включающий Pre-S1/Pre-S2/S регион и регион Core-гена.

Идентичные по региону Pre-S1/Pre-S2/S изоляты 59 и 60 были получены от братьев, что объясняет высокое сходство нуклеотидных последовательностей. При углубленном анализе было выявлено единственное однонуклеотидное отличие у данных изолятов. Вероятнее всего, источник инфицирования в данном случае был общим.

При углубленном попарном анализе изолятов 35 и 56, а также 47 и 55, полученных от пациентов из разных городов проживания, были выявлены различия в Core-области. Нуклеотидная идентичность в парах составила 99% при 16 отличающихся нуклеотидных точках и 98% при 50 отличающихся нуклеотидных точках соответственно.

Однако при анализе изолятов 38 и 40, полученных от пациентов мужского

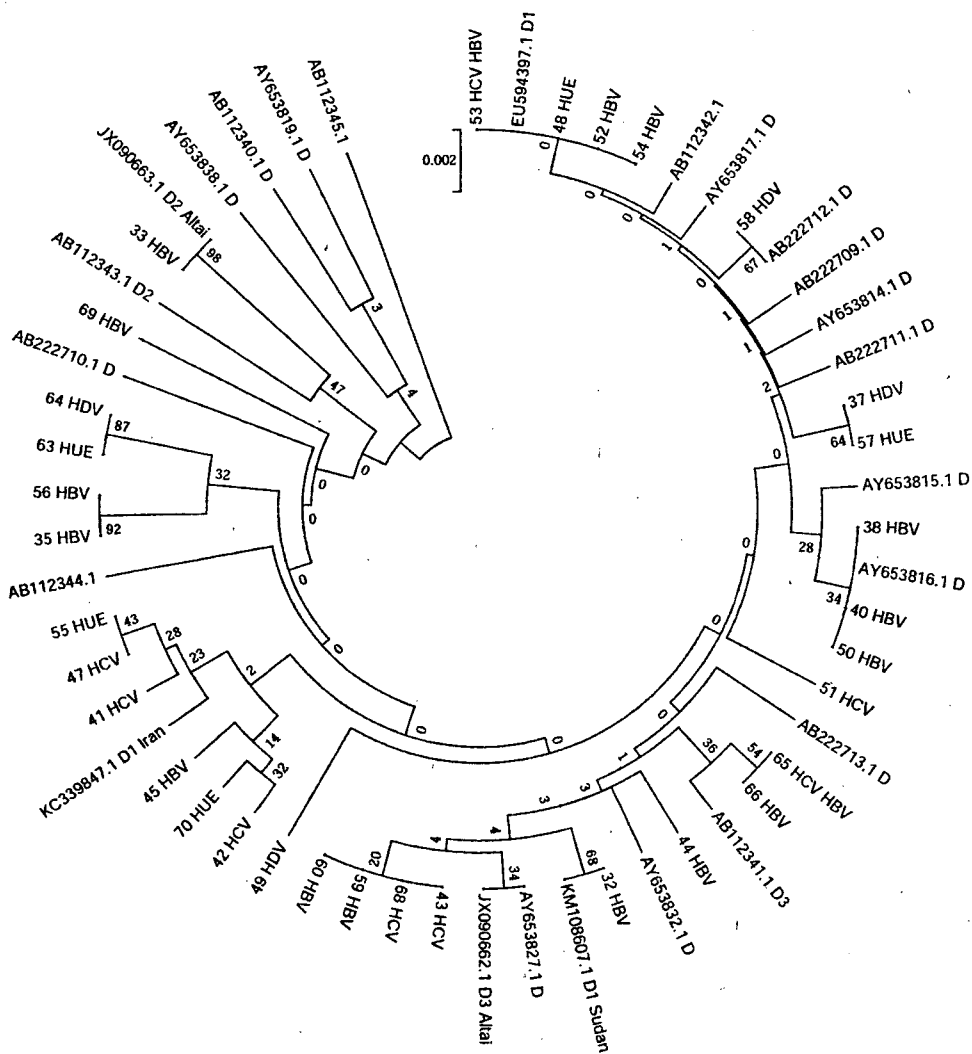


Рис. 2. Дендрограмма, характеризующая филогенетические отношения изолятов ВГВ генотипа D из Узбекистана в сравнении с представленными в GenBank последовательностями ранее полученных изолятов ВГВ.

пола одного возраста (34 года) из одного географического объекта (г. Кашкардаря), поступивших в клинику института вирусологии практически одновременно, была показана идентичность по нуклеотидному составу, несмотря на углубленный анализ. Вышеупомянутые факты, а также представленные в эпиданамнезе данные о том, что один из пациентов употребляет инъекционные наркотики, позволяют нам предположить инъекционный путь передачи вируса у этих больных. Кроме того, очевидна высокая вероятность распространения инфекции среди употребляющих наркотики людей из данного региона.

Ранее была показана возможность высокого сходства и даже идентичности нуклеотидных последовательностей фрагмента Pre-S1/Pre-S2/S и образование

тесных кластеров многочисленными изолятами, выявленными в разные годы в географически отдаленных регионах [13]. Секвенирование полного генома таких изолятов в большинстве случаев позволяло разделить их. Тем не менее, выявление почти идентичных изолятов в пределах субтипа у больных, в том числе из отдаленных географических регионов, может свидетельствовать о поздних эпидемиологических связях [16], а также подразумевать общее происхождение изолятов. В связи с этим, в данном случае мы можем предполагать общий источник инфицирования.

При сравнительном филогенетическом анализе изолятов, выявленных в нашей работе, и изолятов из Узбекистана, представленных в международной базе данных GenBank, показано высокое сходство ВГВ генотипа D (рис. 2).

Сравнение проводилось по укороченному фрагменту нуклеотидных последовательностей, соответственно с длиной образцов, представленных в GenBank. При этом обращает на себя внимание близкое сходство ВГВ субтипов D1 и D3.

Таким образом, высокое сходство нуклеотидных последовательностей выявленных нами изолятов ВГВ у пациентов в группе с гепатитом с выраженным фиброзом и циррозом печени с описанными ранее штаммами показывает эндемичность представленных субтипов для данного региона.

Среди обследованных нами пациентов обращает на себя внимание группа больных с оккультным ВГВ, отличительной чертой которого, как известно, является негативный HBsAg в сыворотке крови, а также низкий уровень вирусной ДНК в плазме крови и печени.

При использовании общепринятых методов анализа с помощью коммерческих наборов у 11 пациентов с ХВГС и у 5 пациентов с диагнозом гепатита неясной этиологии не выявлена ДНК ВГВ в плазме крови и в биоптатах. Однако нам удалось выявить кольцевую ковалентно-замкнутую ДНК ВГВ у 6 из 11 пациентов с ХВГС и у всех пациентов с гепатитом неясной этиологии. Таким образом, частота выявления ВГВ у больных ХВГС составила 54,5%, у больных с гепатитом неясной этиологии — 100% соответственно. В дальнейшем для этих образцов получена нуклеотидная последовательность Pre-S1/Pre-S2/S региона. Среди больных с оккультным ВГВ преобладал субтип D1 (91%), и только у одного человека был выявлен субтип D3 (9%).

Высокий процент обнаружения у больных ХВГС оккультного ВГВ, вероятнее всего, объясняется тем, что ВГС способен препятствовать репликации и экспрессии генов ВГВ, что становится причиной отрицательного HBsAg при анализе. При этом тяжелое состояние пациентов является подтверждением известного факта высокой частоты встречаемости и клинической значимости оккультного ВГВ у больных с ХВГС. По некоторым данным ХВГС в сочетании с оккультным ВГВ связан с повышенным риском развития цирроза печени и гепатоцеллюлярной карциномы [3]. Кроме того, показано, что у людей с тяжелыми заболеваниями печени при отрицательном HBsAg оккультный ВГВ встречается с частотой 59%, а у больных гепатоцеллюлярной карциномой — 85% [12]. ДНК ВГВ обнаруживается в 40 — 50% биоптатов печени при хроническом HBsAg-негативном гепатите [14].

Несмотря на то, что некоторые работы показывают совпадение частот распространенности генотипов и субтипов оккультного ВГВ с распределением генотипов ВГВ в том или ином регионе, также продемонстрирована характерность преобладания генотипа D для оккультного ВГВ и более тяжелой клинической картина, чем при открытом ХВГВ [10]. Особенно показательным это продемонстрировано исследователями в Корее, где показано преобладание

в популяции ВГВ субтипа С (более 90%), но при оккультном ВГВ преобладает субтип D (75%) [9]. При этом считается, что вирус с генотипом D может быть более предрасположен к потере HBsAg, в связи с чем, высказывается предположение о селективном преимуществе генотипа D при смешанном инфицировании.

Таким образом, нельзя сказать, что выявленное нами тотальное преобладание ВГВ субтипа D1 у больных с оккультным гепатитом В коррелирует с распределением генотипов ВГВ в Узбекистане. Однако высокая частота встречаемости данного генотипа в Центральной Азии наводит на мысль о возможности широкого распространения оккультного ВГВ в регионе. Для подтверждения или опровержения данного предположения необходим широкий скрининг населения, что представляется особенно актуальным в связи с давно продемонстрированной возможностью передачи инфекции от оккультных носителей ВГВ.

Мы считаем необходимым выявить причины, по которым заражение ВГВ не было определено ранее у пациентов с ХВГС и у пациентов с гепатитом неясной этиологии. Кроме того, настораживает тот факт, что в исходной группе среди 39 пациентов были два человека с диагнозом ХВГВ, положительными HBsAg, HBeAg и ДНК ВГВ в плазме крови, у которых ни в плазме крови, ни в биоптатах печени нами не был выявлен ВГВ как при использовании стандартных методов диагностики, так и при помощи более сложных методов молекулярного анализа.

Дальнейшие молекулярные эпидемиологические исследования необходимы не только для того, чтобы прояснить данную ситуацию, но и, в первую очередь, для подбора адекватной терапии. Масштабное скринирование ВГВ в Центральной Азии позволило бы оценить пути распространения и время эволюционного разделения изолятов вируса. Понимание эпидемиологии инфекционного процесса важно для разработки программ по профилактике и лечению инфекции.

Систематическое применение молекулярной филогенетики может быть использовано для повышения качества традиционных методов надзора путем выявления инфекционных кластеров.

ЛИТЕРАТУРА

1. Даминов Т.А., Камилов А.И., Туйчиев Л.Н. и др. Клинико-эпидемиологические аспекты генотипов вируса гепатита В, встречающихся в Узбекистане. Вопросы современной педиатрии. 2003, 3 (2)6: 98-100.
2. Avazova D., Kurbanov F., Tanaka Y. et al. Hepatitis B virus transmission pattern and vaccination efficiency in Uzbekistan. *J. Med. Virol.* 2008, 80 (2): 217-224.
3. Branco F., Mattos A.A., Coral G.P. et al. Occult hepatitis B virus infection in patients with chronic liver disease due to hepatitis C virus and hepatocellular carcinoma in Brazil. *Arq. Gastroenterol.* 2007, 44 (1): 58-63.
4. Brichtler S., Lagathu G., Chekarou M.A. et al. African, Amerindian and European hepatitis B virus strains circulate on the Caribbean Island of Martinique. *J. Gen. Virol.* 2013, 94 (10): 2318-2329.
5. Guirgis B.S.S., Abbas R.O., Azzazy H.M.E. Hepatitis B virus genotyping: current methods and clinical implications. *Int. J. Infect. Dis.* 2010, 14: 941-953.
6. Kato H., Ruzibakiev R., Yuldasheva N. et al. Hepatitis B virus genotypes in Uzbekistan and validity of two different systems for genotyping. *J. Med. Virol.* 2002, 67 (4): 477-483.
7. Khan A., Kurbanov F., Tanaka Y. et al. Epidemiological and clinical evaluation of hepatitis B, hepatitis C, and delta hepatitis viruses in Tajikistan. *J. Med. Virol.* 2008, 80 (2): 268-276.
8. Khedive A., Sanei-Moghaddam I., Alavian S.M. et al. Hepatitis B virus surface antigen (HBsAg) mutations are rare but clustered in immune epitopes in chronic carriers from Sistan-Balouchestan Province, Iran. *Arch. Iran. Med.* 2013, 16 (7): 385-389.

9. Kim K.H., Chang H.Y., Park J.Y. et al. Spontaneous HBsAg loss in Korean patients: relevance of viral genotypes, S gene mutations, and covalently closed circular DNA copy numbers. *Clin. Mol. Hepatol.* 2014, 20 (3): 251-260.
10. Kishk R., Atta H.A., Ragheb M. et al. Genotype characterization of occult hepatitis B virus strains among Egyptian chronic hepatitis C patients. *East. Mediterr. Health. J.* 2014, 20 (2): 130-138.
11. Ozaras R., Inanc B.I., Yemisen M. et al. Epidemiology of HBV subgenotypes D. *Clin. Res. Hepatol. Gastroenterol.* 2015, 39 (1): 28-37.
12. Pollicino T., Saitta C. Occult hepatitis B virus and hepatocellular carcinoma. *World J. Gastroenterol.* 2014, 20: 5951-5961.
13. Ramachandran S., Purdy M.A., Xia G. et al. Recent population expansions of hepatitis B virus in the United States. *Virology.* 2014, 88 (24): 13971-13980.
14. Rizvi M., Azam M., Sultan A. et al. Prevalence of genotype D in chronic liver disease patients with occult HBV infection in northern region of India. *Indian J. Pathol. Microbiol.* 2014, 57 (4): 537-541.
15. Ruzibakiev R., Kato H., Ueda R. et al. Risk factors and seroprevalence of hepatitis B virus, hepatitis C virus, and human immunodeficiency virus infection in Uzbekistan. *Intervirol.* 2001, 44 (6): 327-332.
16. Tallo T., Norder H., Tefanova V. et al. Hepatitis B virus genotype D strains from Estonia share sequence similarity with strains from Siberia and may specify ayw4. *J. Med. Virol.* 2004, 74: 221-227.
17. Tallo T., Tefanova V., Priimagi L. et al. D2: major subgenotype of hepatitis B virus in Russia and the Baltic region. *J. Gen. Virol.* 2008, 89: 1829-1839.
18. Yuen M.F., Lai C.L. Hepatitis B virus genotypes: natural history and implications for treatment. *Expert. Rev. Gastroenterol. Hepatol.* 2007, 1: 321-328.
19. Zehender G., Shkjezi R., Ebranati E. et al. Reconstruction of the epidemic history of hepatitis B virus genotype D in Albania. *Infect. Genet. Evol.* 2012, 12: 291-298.

Поступила 23.03.16

Контактная информация: Останкова Ю.В.,
197101, Санкт-Петербург, ул. Мира, 14, р.т. (812)233-20-92

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2016

*А.В.Семенов^{1,2,3}, Ю.В.Останкова¹, Х.Н.Файзуллаев⁴,
Е.И.Казакова⁴, А.В.Козлов³, Э.И.Мусабаев⁴, Арег А.Тотоян^{1,2}*

КОЛЬЦЕВАЯ КОВАЛЕНТНО ЗАМКНУТАЯ ДНК ВГВ КАК МАРКЕР РАСПРОСТРАНЕННОСТИ ОККУЛЬТНОГО ГЕПАТИТА В У ПАЦИЕНТОВ С ВГВ, ВГД И ВГС ИНФЕКЦИЕЙ В УЗБЕКИСТАНЕ

¹Санкт-Петербургский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера, ²Государственный медицинский университет им. И.П.Павлова, ³Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И.Мечникова, С.-Петербург; ⁴НИИ вирусологии, Ташкент, Узбекистан

Цель. Оценить значимость кольцевой ковалентно замкнутой ДНК вирусного гепатита В в качестве маркера для выявления оккультного вирусного гепатита В у жителей Узбекистана, страдающих гепатитами разного генеза. *Материалы и методы.* Материалом исследования служили плазма крови и биоптаты печени 39 пациентов с различной степенью выраженности фиброза печени и циррозом. Выявление кольцевой ковалентно замкнутой ДНК ВГВ проводили согласно методике Pollicino T. et al. (2004). *Результаты.* Кольцевая ковалентно замкнутая ДНК вирусного гепатита В была выявлена в 82% образцах, в том числе, у 54,5% пациентов с хроническим вирусным гепатитом С (ХВГС) и у 100% пациентов с гепатитом неясной этиологии. При количественной оценке содержания кольцевой ковалентно замкнутой ДНК вирусного гепатита В в тканях печени у пациентов с ХВГВ было показано в среднем 2,5 копии генома ВГВ в виде ккз ДНК на клетку, у пациентов с ХВГВ + D в среднем 0,7 копий/клетку, у пациентов с коинфекцией ВГС + ВГВ