

РАЗНООБРАЗИЕ ГЕНОВАРИАНТОВ ВИРУСА ГЕПАТИТА В У ВОЕННОСЛУЖАЩИХ

Ю.В. Останкова¹, А.В. Семенов^{1,2,3}, Е.Б. Зуева¹, И.А. Габдрахманов⁴, К.В. Козлов⁴, К.В. Жданов⁴, 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 Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова, Санкт-Петербург, Россия

Variety of the hepatitis B virus genovariants in the military

Yu.V. Ostantkova¹, A.V. Semenov^{1,2,3}, E.B. Zueva¹, I.A. Gabdrakhmanov⁴, K.V. Kozlov⁴, K.V. Zhdanov⁴, A.A. Totolian^{1,2}

¹ Saint-Petersburg Science Research Institute named after Pasteur, Saint Petersburg, Russia

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

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

⁴ Military Medical Academy named after S.M. Kirov, Saint Petersburg, Russia

Резюме

Цель: проанализировать распределение генотипов и субгенотипов вируса гепатита В среди военнослужащих с хроническим вирусным гепатитом В.

Материалы и методы. В работе были использованы образцы плазмы крови и биопсийного материала тканей печени от 90 действующих или отставных военнослужащих с хроническим вирусным гепатитом В с различной активностью фиброза, проходящих обследование в клинике инфекционных болезней военно-медицинской академии имени С.М. Кирова (Санкт-Петербург, Россия).

Для выявления ВГВ выделяли нуклеиновые кислоты (НК) с использованием коммерческого набора «Ампли-Прайм Рибо-преп» (ФБУН ЦНИИЭ, Москва). Для амплификации и секвенирующей реакции использовали перекрывающиеся пары специфических 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.

Результаты. Во всех 90 образцах биологического материала выявлена ДНК ВГВ следующих генотипов: D2 – 45,6% (n=41), D1 – 32,2% (n=29), D3 – 13,3% (n=12), A2 – 6,7% (n=6), D4 и A1 по 1,1% соответственно. Распределение субгенотипов ВГВ, обнаруженных в материале пациентов из Северо-Кавказского федерального округа (D1 – 63,6%, D2, D3, D4, A2 – по 9,1%), достоверно отличалось от распределения субгенотипов изолятов, полученных от пациентов из Центрального и Северо-Западного федеральных округов (D1 – 20,9%, D2 – 58%, D3 – 16,3%, A2 – 4,8%) ($\chi^2=11,9$ при $p=0,0076$, $df=3$). Выявлены нехарактерные для РФ субгенотипы D4 и A1, представляющие собой единичные завозные случаи.

Abstract

Aim. To estimate the distribution of genotypes and subgenotypes of the hepatitis B virus among military personnel with chronic viral hepatitis B.

Materials and methods. The work used samples of blood plasma and biopsy material obtained from 90 active or retired military personnel with chronic viral hepatitis B with various degrees of fibrosis undergoing treatment in St. Petersburg.

Primary detection of HBV was carried out by isolating nucleic acids (NK) from the blood plasma using the «AmpleP-rime Ribo-prep» commercial kit (FBIS CRIE, Moscow). Specific primers were used for the amplification and sequencing reaction. Overlapping primer pairs were used, jointly flanking 1475 base pairs (bp) fragment, including the recommended for HBV genotyping the 1169 bp Pre-S1/Pre-S2/S.

Results. Among 90 samples from patients with chronic viral hepatitis B from different regions of the Russian Federation, HBV subgenotypes are represented in the following ratios: D2 = 45.6% (n=41), D1 = 32.2% (n=29), D3 = 13.3% (n=12), A2 = 6.7% (n=6), D4 and A1 by 1.1%, respectively. The distribution of HBV subgenotypes from the North Caucasian federal district (D1 – 63.6%, D2, D3, D4, A2 – by 9.1%) was significantly different from the distribution among patients from the Central and North-Western federal districts (D1-20, 9%, D2 – 58%, D3 – 16.3%, A2 – 4.8%) ($\chi^2=11,9$ при $p=0,0076$, $df=3$). Uncharacteristic for the Russian Federation subgenotypes D4 and A1, representing single imported cases. The tendency to shift the distribution of genovariants due to imports of the corresponding HBV subgenotypes from other countries, including the Central Asian countries, is discussed.

Conclusion. A systematic study of the HBV isolates phylogeny provides new information about the HBV subgenotypes distribution among certain population groups, including military personnel.

Обсуждается тенденция к смещению распределения геновариантов за счет завозов ВГВ соответствующих субгенотипов из других стран, в том числе стран Средней Азии.

Заключение. Систематическое изучение филогении изолятов ВГВ позволяет получить новую информацию об особенностях распространения субгенотипов ВГВ среди отдельных групп населения, в том числе военнослужащих.

Ключевые слова: хронический вирусный гепатит В, генотип ВГВ, молекулярная эпидемиология, военнослужащие.

Введение

В настоящее время вирусный гепатит В представляет собой значимую проблему общественного здравоохранения. Ежегодно от заражения вирусом гепатита В (ВГВ) умирает не менее 780 тысяч человек, из них 650 тысяч умирают от цирроза и гепатоцеллюлярной карциномы в результате хронической инфекции [1]. Большинство пациентов с хронической инфекцией были инфицированы в детстве, в то время как среди людей, инфицированных в зрелом возрасте, только у 5% развивается хронический вирусный гепатит В (ХГВ) [2].

Распространенность ВГВ демонстрирует высокую изменчивость среди различных групп риска, что необходимо учитывать при разработке противоэпидемических мероприятий.

При обследовании призывников на годность к военной службе одним из обязательных анализов в Российской Федерации является лабораторное выявление маркеров вирусных гепатитов В и С, согласно требованиям действующих нормативных документов. Таким образом, случаи более позднего выявления ВГВ у действительных или отставных военнослужащих свидетельствуют о контакте с инфекцией при прохождении службы. Отдельно следует обсудить вопрос о недостаточности принятых в настоящее время алгоритмов диагностики.

ВГВ высококонтагиозен и способен длительное время сохраняться и сохранять свою инфекционность во внешней среде за счет высокой устойчивости к таким факторам, как низкая и высокая температура, замораживание и т.д.

Существует повышенный риск передачи ВГВ среди военнослужащих, особенно проживающих в учреждениях казарменного типа во время срочной и/или контрактной службы, при обучении в системе высшего образования Министерства обороны РФ. Возможным источником инфицирования, в том числе при выполнении основных обязанностей и учебных мероприятий, могут быть любые действия, которые связаны с высоким риском получения травм и микротравм, татуировок, а также с распространенным совместным использованием таких личных предметов гигиены, как бритвенные

Key words: Chronic hepatitis B, HBV genotype, molecular epidemiology, military.

станки, зубные щетки, маникюрные ножницы и т.п. [3]. Дополнительной причиной инфицирования является рискованное сексуальное поведение, связанное с отсутствием постоянного полового партнера у военнослужащих, находящихся вдали от постоянного места проживания, способствующее появлению многочисленных половых связей, увеличивающих риск заражения инфекциями, передаваемыми половым путем, включая ВГВ [4].

В силу высокой генетической гетерогенности ВГВ в настоящее время выделяется 9 генотипов, отличающихся по составу нуклеотидных последовательностей более чем на 8%, и 35 субгенотипов, отличающихся друг от друга на 4–7,5% [5, 6, 7]. Отдельно следует упомянуть генотип J («мнимый генотип»), филогенетически позиционирующийся между ВГВ человека и высших приматов [8]. Геноварианты ВГВ демонстрируют четкое географическое распределение. Анализ филогенетических взаимоотношений изолятов ВГВ внутри географических регионов и/или групп пациентов оказывается неопределимым инструментом в исследовании молекулярной эволюции, закономерностей распространения вируса и способов его передачи. В последние годы наблюдается тенденция к смещению распространенности тех или иных генотипов ВГВ в различных географических ареалах. Все чаще выявляются «чуждые» для тех или иных территорий субгенотипы, происходящие из стран с высокой распространенностью ВГВ и зависящие от иммиграционных потоков.

Раннее выявление больных ВГВ позволит не только обеспечить своевременную терапию, но и организовать противоэпидемические мероприятия, препятствующие распространению вируса, чему также будет помогать анализ геновариантов выявляемых изолятов, способствующий расширению данных об эпидемическом процессе ВГВ среди военнослужащих.

Цель исследования — проанализировать распределение генотипов и субгенотипов вируса гепатита В среди военнослужащих с хроническим вирусным гепатитом В.

Материалы и методы

В работе были использованы образцы плазмы крови и биопсийного материала ткани печени от 90 действующих или отставных военнослужащих с ХГВ с различной стадией фиброза, проходящих обследование в клинике инфекционных болезней Военно-медицинской академии имени С.М. Кирова (Санкт-Петербург, Россия).

Для выявления ВГВ выделяли нуклеиновые кислоты (НК) с использованием коммерческого набора «АмплиПрайм Рибо-преп» (ФБУН ЦНИИЭ, Москва). Для амплификации и секвенирующей реакции применяли специфические праймеры (Синтол, Россия), последовательность которых брали из литературных источников, а также подбирали с помощью программы NCBI/Primer-BLAST, согласно общепринятым рекомендациям. 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) [9].

Для ПЦР в общем виде использовали следующий состав амплификационной смеси: 10 пМ каждого олигопраймера, 1,0 мМ каждого нуклеозидтрифосфата, 6,7 мМ MgCl₂, 1 ед. рекомбинантной Taq ДНК-полимеразы (Fermentas), буфер для Taq ДНК-полимеразы (750 мМ Трис-HCl, (pH 8,8), 200 мМ (NH₄)₂SO₄, 0,1% (v/v) твин 20), 10% DMSO, 1 мкг матрицы, вода без нуклеаз до конечного объема 25 мкл. Амплификацию в общем виде проводили при следующих условиях: после денатурации при 95°C в течение 5 минут устанавливали 30–40 циклов амплификации в режиме: 95°C – 20 – 40 с, 55–65°C – 20 – 30 с, 72°C – 30 – 90 с; затем финальная элонгация при 72°C – 5 мин. Качество ПЦР определяли визуально в 2% агарозном геле (120 В, 40 мин; 1xTBE), окрашенном бромистым этидием. Очищенный фрагмент достаточной концентрации использовали для постановки секвенирующих реакций.

Секвенирующую реакцию проводили согласно инструкции к набору реагентов ABI PRISM BigDye Terminator v3.1. (Applied Biosystems, США), в трех повторах, на прямых и обратных праймерах. Реакционная смесь для секвенирующей реакции включала: ABI PRISM BigDye Terminator v3.1 Kit 4 мкл, праймер для секвенирования 3,0 мкл (концентрация 1,6 пмол/мкл), очищенный продукт амплификации (объем зависел от концентрации), деионизированная вода до конечного объема смеси 20 мкл. Постановку реакции осуществляли на термоциклере BIO-RAD CFX96 в режиме: устанавливали 25 циклов амплификации в режиме: 96°C – 10 с, 50°C – 5 с, 60°C – 4 мин.

Для анализа продукта секвенирующей реакции очищенный осадок денатурировали в формамиде и помещали в генетический анализатор ABI Prism 3500 (Applied Biosystems, США).

Первичный анализ полученных в ходе секвенирования 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 7.0, используя алгоритм ClustalW [10]. Поскольку выбранный для секвенирования регион ВГВ демонстрирует высокую скорость эволюции, для построения филогенетических деревьев и последующего филогенетического анализа рассматривали расстояния между последовательностями методом присоединения соседей, позволяющим оптимизацию дерева в соответствии с критерием «сбалансированной минимальной эволюции» (Neighbor-joining), для оценки достоверности построенных деревьев проведен бутстреп (bootstrap) анализ для 500 повторов.

Результаты и обсуждение

Возраст пациентов варьировал от 20 до 50 лет и составил в среднем 37,5±9,5 лет. В силу особенностей группы число мужчин существенно преобладало по сравнению с женщинами – 90,9% и 9,1% соответственно.

При анализе ДНК ВГВ, полученных от 90 пациентов с HBsAg-позитивной формой ХГВ из различных регионов Российской Федерации, выявлено значительное преобладание ВГВ генотипа D (92,2%) по сравнению с генотипом A (7,8%). Иных генотипов выявлено не было.

Среди субгенотипов доминирующего генотипа D ВГВ превалировал D2 (49,4%) по сравнению с D1 (34,9%) и D3 (14,5%), в единичном случае был выявлен субгенотип D4 (1,2%). Среди образцов ВГВ генотипа A был обнаружен преимущественно субгенотип A2 (85,7%) и один образец субгенотипа A1 (14,3%).

Таким образом, среди 90 изолятов ВГВ, проанализированных в настоящем исследовании, представлены субгенотипы ВГВ в следующих соотношениях: D2 – 45,6% (n = 41), D1 – 32,2% (n = 29), D3 – 13,3% (n = 12), A2 – 6,7% (n = 6), D4 и A1 – по 1,1% соответственно. Филогенетические отношения между исследованными изолятами и референсными последовательностями представлены на рисунке.

Несмотря на то, что ранее было доказано влияние генотипа на уровень вирусной нагрузки и прогрессирование хронической инфекции в цирроз и ГЦК [6, 7, 11], статистически значимых различий при анализе зависимости между вирусной нагрузкой, определенной при выявлении ХГВ, а также между фазами иммунного контроля и реактивации и генотипом ВГВ у данных пациентов не выявлено.

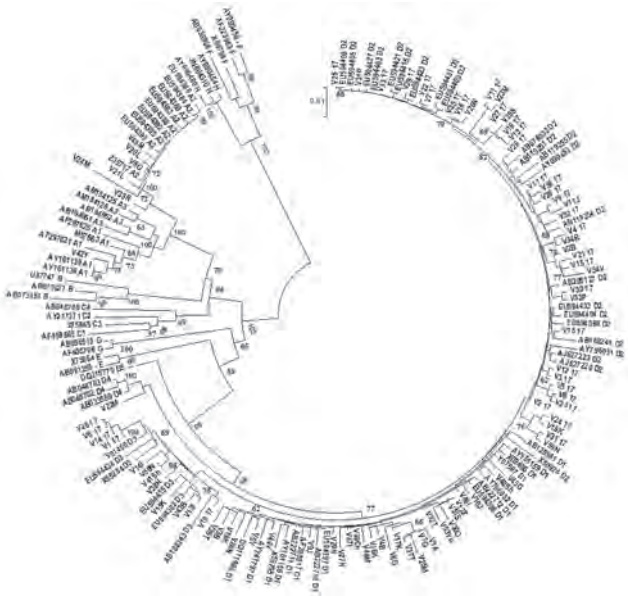


Рис. Филогенетическое дерево исследованных изолятов ВГВ, выделенных от пациентов с ХГВ, проживающих на территории РФ, в сравнении с представленными в международной базе данных GenBank референсными последовательностями

Полученные результаты в целом не противостоят опубликованным ранее работам, согласно которым, в РФ преобладает ВГВ генотипа D. Так, например, в Санкт-Петербурге в период с 2002 по 2006 г. преобладал ВГВ генотипа D (96%), по сравнению с ВГВ генотипа А (4%) [12], к генотипу D относятся 100% проанализированных изолятов из Самарской области, 98% из Новосибирской области, 85% из Московской области [13, 14, 15]. Однако следует отметить, что распределение генотипов ВГВ в различных регионах РФ может существенно отличаться. Например, в обследованной нами группе не был выявлен ВГВ генотипа С, встречаемость генотипа А составила 7,8%, однако на территории Сибири генотип С встречается с частотой 1% [16], кроме Чукотки и Якутии, где его выявляемость достигает 50% при повышенной встречаемости генотипа А до 25% [17, 18, 19].

Распределение субгенотипов ВГВ также значительно различается в субъектах РФ. Например, Tallo T. et al. показали преобладание субгенотипа D2 (82%) по сравнению с D1 (6%) и D3 (12%) в России и странах ближнего зарубежья [20], в то время как во Владимирской области, по данным других авторов, встречаемость субгенотипов ВГВ отличается: D1 – 18%, D2 – 26%, D3 – 56% [21].

При разделении 90 обследованных пациентов были выделены следующие группы, согласно регионам происхождения/проживания: из Центрального (ЦФО) или Северо-Западного федеральных округов (СЗФО) – 62 изолята, из Северо-Кавказского федерального округа (СКФО) – 11 изолятов,

из Южного федерального округа (ЮФО) – 6 изолятов, из Дальневосточного федерального округа (ДФО) – 4 изолята, выходцы из других стран СНГ – 7 изолятов.

Распределение субгенотипов ВГВ среди пациентов из ЦФО и СЗФО (D1 – 20,9%, D2 – 58%, D3 – 16,3%, A2 – 4,8%) практически не отличалось от такового в общей группе.

Распределение субгенотипов ВГВ из СКФО (D1 – 63,6%, D2, D3, D4, A2 – по 9,1%) достоверно отличалось от распределения среди пациентов из ЦФО и СЗФО ($\chi^2 = 11,9$ при $p = 0,0076$, $df = 3$). При сравнительном анализе распределения с общей группой достоверных различий выявлено не было ($p = 0,09$), однако очевидна тенденция к увеличению встречаемости субгенотипа D1 по мере продвижения с востока на запад РФ. Это согласуется с ранее описанными данными, согласно которым частота встречаемости субгенотипа D1 убывает от европейской части России до Дальнего Востока с 45% до 12%, однако противоречит возрастанию частоты встречаемости субгенотипа D3 с 15% до 63% на том же географическом маршруте [17]. Обращает на себя внимание высокая распространенность субгенотипа D1 в группе пациентов из ЦФО и СЗФО. Полученные результаты не характерного распределения субгенотипов ВГВ D1, D2, D3 для данных регионов РФ могут быть связаны с несколькими причинами, в том числе с высокой мобильностью военнослужащих и неоднократной сменой места жительства при прохождении службы большинства из них. При этом в связи с отсутствием точных данных о предполагаемом времени инфицирования ВГВ невозможно однозначно прогнозировать вероятность инфицирования как действующих, так и отставных военнослужащих тем или иным субгенотипом вируса, принимая во внимание эпидемиологические особенности географического региона проживания военнослужащего в момент обследования.

Кроме того, большинство военнослужащих в различные периоды профессиональной активности живут в специализированных военных лагерях, казармах и т.п., что может способствовать передаче ВГВ некоторыми общими путями, связанными, например, с использованием предметов личной гигиены [3]. То есть точных данных о времени и месте инфицирования ВГВ нет, и столь высокая частота встречаемости в группе ВГВ D1 может быть связана с инфицированием в регионах, для которых этот субгенотип характерен.

Следует отметить, что частота встречаемости генотипов ВГВ в СКФО практически не описана в литературе, однако анализ данных о ситуации на географически близлежащих территориях свидетельствует о распределении генотипов, схожем с выявленным нами в подгруппе пациентов из Че-

ченской Республики и Республики Дагестан. Так, в Азербайджане преобладающим генотипом ВГВ является D (93,2%), значительно менее распространены генотип A (5,8%) и коинфекция генотипами A и D (0,97%) [22].

Небольшая численность группы пациентов, проживающих в ЮФО, не позволила получить достоверные различия в сравнении с другими группами, однако полученные результаты (D1 – 66,7%, A2 – 33,3%) подтверждают вышеупомянутую тенденцию.

Среди пациентов, прибывших из других стран СНГ (преимущественно из Республики Таджикистан) преобладал субгенотип D1 (57,1%) по сравнению с равнозначными по численности субгенотипами D2, D3, A1 (14,3%), небольшой объем группы также не позволил получить достоверные различия при сравнении с другими группами. Представленные в литературе данные свидетельствуют о преобладании на территории Таджикистана ВГВ генотипа D (65,7%) по сравнению с A (34,2%) [23], отсутствие в представленном нами исследовании пациентов с ВГВ генотипа A из Республики Таджикистан связано, по всей видимости, с малым объемом этой подгруппы.

Некоторые полученные нами результаты филогенетического анализа мы считаем необходимым описать дополнительно.

Так, например, обращает на себя внимание случай полной нуклеотидной идентичности региона Pre-S1/Pre-S2/S у изолятов V41Sh и V50N, выделенных от пациентов из географически удаленных регионов: пациент V41Sh проживал в Санкт-Петербурге, а пациент V50N в Дагестане, но регулярно бывал в Санкт-Петербурге. Оба пациента по национальности татары, первичное выявление ВГВ и в том, и в другом случае произошло в 2015 г. В дальнейшем было выполнено секвенирование полных геномов ВГВ данных изолятов, при анализе которых выявлены три однонуклеотидных полиморфных варианта, по которым изоляты отличались друг от друга. Нуклеотидные последовательности полных геномов данных изолятов ВГВ депонированы в международную базу данных GenBank под номерами MK900678-MK900679. Высокое сходство нуклеотидных последовательностей позволяет предполагать единый источник инфицирования, однако для обнаружения пути инфицирования необходим более глубокий анализ анамнестических данных пациентов. На данный момент мы можем предполагать как половой путь передачи вируса, так и парентеральный – поскольку субгенотип D3, к которому принадлежат выявленные изоляты, ассоциирован с парентеральным инфицированием среди наркоманов [24].

Еще один заинтересовавший нас случай – высокое сходство изолята V23M с ранее описанны-

ми нами изолятами из Якутии [25], несмотря на проживание пациента в Санкт-Петербурге. При расследовании данного случая было обнаружено, что диагноз ХГВ установлен в 2014 г., больной проживал в Санкт-Петербурге менее 5 лет, родился и до переезда в Санкт-Петербург проживал в Сахалинской области. Таким образом, высокое сходство нуклеотидной последовательности данного образца с изолятами из Якутии позволило предположить, что заражение ВГВ в данном случае произошло до переезда больного в СЗФО.

В ходе исследований были выявлены два случая с нехарактерным для постсоветского пространства субгенотипом ВГВ.

Изолят V22M, полученный от пациента (по национальности даргинец), проживающего в городе Каспийск Республики Дагестан, при филогенетическом анализе был отнесен к субгенотипу D4, не встречающемуся на территории РФ. ВГВ субгенотипа D4 имеет наибольшую генетическую дистанцию от наиболее вероятного общего предка генотипа D, являясь наиболее древним из отделенных субгенотипов – после его отделения произошло отделение субгенотипа D3, а позже – субгенотипов D1 и D2. Предположение о том, что «новые» субгенотипы циркулируют ближе к центру области современного распространения ВГВ генотипа D, а древние субгенотипы наиболее удалены от него, позволяет сделать вывод о первоначальном возникновении генотипа D в районах Ближнего Востока или Северо-Восточной Африки. Это объясняет преимущественную встречаемость субгенотипа D4 у доноров крови из Папуа – Новой Гвинеи, аборигенов Австралии, в этнической микронезийской общине Соломоновых островов, Сомали, а также на Карибских островах Гаити и Мартинике, в Бразилии в штате, жители которого в основном являются потомками европейских колонизаторов, африканских рабов и коренных американцев, где его распространение связывают с вывозом рабов из Африки в страны Карибского бассейна [26].

Выявление ВГВ субгенотипа D4 на территориях более близких к регионам происхождения вируса, очевидно, свидетельствует о случайном завозе. Так, сравнительно недавно были описаны случаи обнаружения ВГВ D4 в Беларуси [27]. Однако мнение о возможности возникновения вируса субгенотипа D4 в иных географических ареалах исключительно за счет случайных завозов было опровергнуто в 2014 г., когда в штате Трипура (Индия) у 19% больных ХГВ был описан кластер уникальных изолятов D4, отличающихся от африканских и австралийских вариантов и циркулирующих, по всей видимости, на ограниченной территории [28]. Там же показано, что уровень вирусной нагрузки у пациентов с ВГВ D4 был значительно ниже, чем у пациентов

с ВГВ субгенотипов D1 – D3. Таким образом, хотя наиболее вероятной причиной обнаружения изолята субгенотипа D4 в нашем исследовании является случайный завоз вируса, возможно также, что ВГВ D4 ранее не выявляли в отдаленных регионах РФ из-за низкой вирусной нагрузки и ограниченности коммерческих наборов по этому параметру.

В образце V42Y, полученном от пациента (по национальности эфиоп), приехавшего в Санкт-Петербург из Федеративной Демократической Республики Эфиопия (Восточная Африка), была выявлена ДНК ВГВ субгенотипов D1 и A1, последний из которых не характерен для РФ, но является доминирующим субгенотипом генотипа А в странах Африки. Общий предок современных субгенотипов А циркулировал в Западно-Центральной Африке около тысячи лет назад, в начале XIII в. генотип А разделился на две основные клады: одну, включающую все квази-субгенотипы Западной и Центральной Африки, и вторую, соответствующую субгенотипу A1, происходящему из Восточной Африки и дополнительно разделяющуюся на две «африканскую» и «космополитическую» субклады, из которых изоляты последней были экспортированы в Азию в XVII в. в результате арабской или португальской торговли, а также в Латинскую Америку в XVIII в. посредством трансатлантической работорговли [29]. В Республике Эфиопия, являющейся страной с высокой распространенностью гепатотропных вирусов, преобладает ВГВ субгенотипа A1 – 78% и встречается субгенотип D1 [30].

Заключение

Увеличение частоты встречаемости ВГВ субгенотипов D1 и D3 среди военнослужащих пациентов с ХГВ, проживающих в ЦФО и СЗФО РФ, по сравнению с ранее опубликованными данными, свидетельствует о смещении распределения геновариантов в регионе, произошедшем, вероятно, за счет завозов ВГВ соответствующих субгенотипов из других стран и в том числе стран Средней Азии. Выявленные среди пациентов с ХГВ два нехарактерных для РФ геноварианта ВГВ D4 и A1 представляют собой случайные завозы изолятов.

Систематическое изучение филогении изолятов ВГВ позволяет получить новую информацию об особенностях распространения субгенотипов ВГВ среди отдельных групп населения, в том числе военнослужащих.

Литература

- 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). P:1546-1555. doi: 10.1016/S0140-6736(15)61412-X.
- Perz J.F., Armstrong G.L., Farrington L.A., Hutin Y.J., Bell B.P. The contributions of hepatitis B virus and hepatitis C virus

infections to cirrhosis and primary liver cancer worldwide. *J. Hepatol*. 2006. 45. P:529–538. doi: 10.1016/j.jhep.2006.05.013.

- Alavian S.M. Military personals should be vaccinated against hepatitis B infection. *J. Arch Mil Med*. 2013. v.2(1):e16450.

- Губерницкая, С.В. Сексуальное поведение и распространенность возбудителей урогенитальных инфекций у военнослужащих / С.В. Губерницкая, О.С. Сахаров, И.Г. Мосягин // *Экология человека*. – 2011. – №11 – С. 25–28.

- Kramvis A, Arakawa K, Yu MC, Nogueira R, Stram DO, Kew MC. Relationship of serological subtype, basic core promoter and precore mutations to genotypes/subgenotypes of hepatitis B virus. *J Med Virol*. 2008;80:27–46.

- Lin C.-L. Kao J.-H. Hepatitis B Virus Genotypes and Variants. *Cold Spring Harb. Perspect. Med*. 2015. v. 5, № 5. P.a021436 – a021436.

- Norder H., Couroucé A.-M., Coursaget P., Echevarria J. M., Lee S.-D., Mushahwar I. K., Robertson B. H., Locarnini S., Magnus L. O. Genetic diversity of hepatitis B virus strains derived worldwide: genotypes, subgenotypes, and HBsAg subtypes. *Intervirology*. 2004. V. 47, № 6. P.289–309.

- Tatematsu K., Tanaka Y., Kurbanov F., Sugauchi F., Mano S., Maeshiro T., Nakayoshi T., Wakuta M., Miyakawa Y., Mizokami M. A genetic variant of hepatitis B virus divergent from known human and ape genotypes isolated from a Japanese patient and provisionally assigned to new genotype J. *J. Virol*. 2009. 83(20). P. 10538-10547.

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

- Kumar S., Stecher G., Tamura K. MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 7.0 for bigger datasets. *Molecular Biology and Evolution*. 2016, vol. 33, №7. P. 1870-1874.

- Kuo A., Gish R. Chronic hepatitis B infection. *Clin. Liver Dis*. 2012. V. 16, № 2. P.347–369.

- Елпаева, Е.А. Генотипическая характеристика вируса гепатита В у хронически инфицированных больных / Е. А. Елпаева [и др.] // *Дальневосточный Журнал Инфекционной Патологии*. – 2009. – № 15 – С. 56–59.

- Баяндин, Р.Б. Генотипическое разнообразие изолятов и факторы риска инфекции вирусом гепатита В у отдельных групп населения Новосибирской области / Р.Б. Баяндин [и др.] // *Инфекционные болезни*. – 2004. – Т. 2, № 3. – С. 39–44.

- Abe K., Hayakawa E., Sminov A.V., Rossina A.L., Ding X., Huy T.T., Sata T., Uchaikin V.F. Molecular epidemiology of hepatitis B, C, D and E viruses among children in Moscow, Russia. *Journal of Clinical Virology*. 2004. v.30, №1. P. 57-61.

- Flodgren E., Bengtsson S., Knutsson M., Strebkova E.A., Kidd A.H., Alexeyev O.A., Kidd-Ljunggren K. Recent high incidence of fulminant hepatitis in Samara, Russia: molecular analysis of prevailing hepatitis B and D virus strains. *J. Clin. Microbiol*. 2000. 38(9). P.3311-2316.

- Кочнева, Г.В. Этиология острых гепатитов и генотипическое разнообразие вирусов гепатитов А, В, С и Е в трех регионах Сибири / Г.В. Кочнева [и др.] // *Инфекционные болезни*. – 2005. – Т. 3, № 1. – С. 26–31.

- Чуланов, В.П. Эпидемиологическое и клиническое значение генетической гетерогенности вирусов гепатита А и В. Автореферат диссертации на соискание ученой степени доктора медицинских наук. – Москва. – 2013. – 47 с.

- Лобзин, Ю.В. Клинико-эпидемиологическая характеристика гепатита В в Республике Саха (Якутия) / Ю.В. Лобзин, С.С. Слепцова, М.Н. Алексеева, А.Г. Рахманова // *Инфекционные болезни*. – 2004. – Т. 2, № 2. – С. 13–16.

19. Кузин, С.Н. Генетическое разнообразие вируса гепатита В на территории Республики Саха (Якутия) / С.Н. Кузин [и др.] // Эпидемиология и вакцинопрофилактика, — 2008. — Т. 42, № 5. — С. 10–15.

20. Tallo T., Tefanova V., Priimagi L., Schmidt J., Katargina O., Michailov M., Mukomolov S., Magnus L., Norder H. D2: major subgenotype of hepatitis B virus in Russia and the Baltic region. *Journal of General Virology*. 2008. V. 89. P. 1829-1839.

21. Заботина, Е.Е. Эпидемиологические и молекулярно-генетические аспекты гепатитов В и С (по материалам Владимирской области) : Диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук / Е.Е. Заботина. — М., 2011. — 133 с.

22. Bokharaei-Salim F., Keyvani H., Monavari S.H., Esghaei M., Fakhim S., Pirkooh A. Ataei, Behnavi B. Distribution of hepatitis B virus genotypes in azerbaijani patients with chronic hepatitis B infection. *Hepat. Mon.* 2014. vol.14(12). P.e25105.

23. Азимова, С. Особенности клинического течения хронического вирусного гепатита HBV в зависимости от его генотипов / С. Азимова [и др.] // Доклады Академии Наук Республики Таджикистан. — 2011. — Т. 54, № 5. — С. 414–418.

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

25. Семенов, А.В. К вопросу о молекулярной эпидемиологии гепатита В в Республике Саха (Якутия) / А.В. Семенов [и др.] // Журнал инфектологии. — 2016. — Т. 8, № 1. — С. 57–65.

26. Andernach I.E., Nolte C., Pape J.W., Muller C.P. Slave Trade and Hepatitis B Virus Genotypes and Subgenotypes in Haiti and Africa. *Emerg Infect Dis*. 2009. vol.15. P. 1222–1228.

27. Гасич, Е.А. Генотипы вируса гепатита В, циркулирующие в республике Беларусь / Е.А. Гасич [и др.] // Здравоохранение (Минск). — 2012. — № 11. — С. 48–55.

28. 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. A. Rare HBV Subgenotype D4 with Unique Genomic Signatures Identified in North-Eastern India – An Emerging Clinical Challenge? *PLoS One*. 2014. vol.9(10). P. e109425.

29. Kramvis A., Paraskevis D. Subgenotype A1 of HBV-tracing human migrations in and out of Africa. *Antivir Ther*. 2013. vol.18(3 Pt B). P.513-521.

30. Hundie G.B., Raj V.S., Michael D.G., Pas S.D., Osterhaus A.D., Koopmans M.P., Smits S.L., Haagmans B.L. Molecular epidemiology and genetic diversity of hepatitis B virus in Ethiopia. *J. Med Virol*. 2016. vol.88(6). P.1035-1043.

References

1. 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). P:1546-1555. doi: 10.1016/S0140-6736(15)61412-X.

2. Perz J.F., Armstrong G.L., Farrington L.A., Hutin Y.J., Bell B.P. The contributions of hepatitis B virus and hepatitis C virus infections to cirrhosis and primary liver cancer worldwide. *J. Hepatol*. 2006. 45. P:529–538. doi: 10.1016/j.jhep.2006.05.013.

3. Alavian S.M. Military personals should be vaccinated against hepatitis B infection. *J. Arch Mil Med*. 2013. v.2(1):e16450.

4. Gubernitskaya, S.V. Sexual behavior and prevalence of urogenital pathogens infections in military personnel / S.V. Gubernitskaya, O.S. Saharov, I.G. Mosyagin // *Ekologiya che-loveka*. — 2011. — №11 — С. 25-28 (in Russian).

5. Kramvis A, Arakawa K, Yu MC, Nogueira R, Stram DO, Kew MC. Relationship of serological subtype, basic core promoter and precore mutations to genotypes/subgenotypes of hepatitis B virus. *J Med Virol*. 2008;80:27–46.

6. Lin C.-L. Kao J.-H. Hepatitis B Virus Genotypes and Variants. *Cold Spring Harb. Perspect. Med*. 2015. v. 5, № 5. P.a021436–a021436.

7. Norder H., Couroucé A.-M., Coursaget P., Echevarria J. M., Lee S.-D., Mushahwar I. K., Robertson B. H., Locarnini S., Magnus L. O. Genetic diversity of hepatitis B virus strains derived worldwide: genotypes, subgenotypes, and HBsAg subtypes. *Intervirol*. 2004. V. 47, № 6. P.289–309.

8. Tatematsu K., Tanaka Y., Kurbanov F., Sugauchi F., Mano S., Maeshiro T., Nakayoshi T., Wakuta M., Miyakawa Y., Mizokami M. A genetic variant of hepatitis B virus divergent from known human and ape genotypes isolated from a Japanese patient and provisionally assigned to new genotype J. *J. Virol*. 2009. 83(20). P. 10538-10547.

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

10. Kumar S., Stecher G., Tamura K. MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 7.0 for bigger datasets. *Molecular Biology and Evolution*. 2016, vol. 33, №7. P. 1870-1874.

11. Kuo A., Gish R. Chronic hepatitis B infection. *Clin. Liver Dis*. 2012. V. 16, № 2. P.347–369.

12. Elpayeva, E.A. Genotipicheskaya kharakteristika virusa gepatita V u khronicheskii infitsirovannykh bolnykh / E. A. Elpayeva, E. A. Poretskova, A. Yu. Kovelonov, I. S. Alikyan, R. B. Galbraykh, M. P. Grudin, E. V. Esaulenko // *Dalnevostochnyy Zhurnal Infektsionnoy Patologii*. — 2009. — № 15 — С. 56–59 (in Russian).

13. Bayandin, R.B. Genotipicheskoye raznoobraziye izolyatov i faktory riska infektsii virusom gepatita V u otdelnykh grupp naseleniya Novosibirskoy oblasti / R.B. Bayandin, A.V. Shustov, G.V. Kochneva, G.F. Sivolobova, A.A. Grazhdantseva, L.A. Akinfeyeva, I.G. Rakova, M.V. Aleshina, V.N. Bukin, V.G. Orlovskiy, V.S. Bespalov, S.V. Netesov // *Infektsionnyye bolezni*. — 2004. — Т. 2. — № 3. — С. 39-44 (in Russian).

14. Abe K., Hayakawa E., Sminov A.V., Rossina A.L., Ding X., Huy T.T., Sata T., Uchaikin V.F. Molecular epidemiology of hepatitis B, C, D and E viruses among children in Moscow, Russia. *Journal of Clinical Virology*. 2004. v.30, №1. P. 57-61.

15. Flodgren E., Bengtsson S., Knutsson M., Strebkova E.A., Kidd A.H., Alexeyev O.A., Kidd-Ljunggren K. Recent high incidence of fulminant hepatitis in Samara, Russia: molecular analysis of prevailing hepatitis B and D virus strains. *J. Clin. Microbiol*. 2000. 38(9). P.3311-2316.

16. Kochneva, G.V. Etiologiya ostrykh gepatitov i genotipicheskoye raznoobraziye virusov gepatitov A, V, S i E v trekh regionakh Sibiri / G.V. Kochneva, A.A. Grazhdantseva, G.F. Sivolobova, A.V. Shustov, I.V. Gavrilova, E.V. Chub, R.B. Bayandin, V.A. Ternovoy, E.V. Chausov, L.A. Akinfeyeva, V.M. Granitov, E.G. Sakharova, L.I. Gubanova, V.G. Orlovskiy, S.V. Netesov // *Infektsionnyye bolezni*. — 2005. — т. 3, № 1. — С. 26-31 (in Russian).

17. Chulanov, V.P. Epidemiologicheskoye i klinicheskoye znacheniyе geniticheskoy geterogennosti virusov gepatita A i B. Avtoreferat dissertatsii na soiskaniye uchenoy stepeni doktora meditsinskikh nauk. — Moskva. — 2013. — 47 с (in Russian).

18. Lobzin, Yu.V. Kliniko-epidemiologicheskaya kharakteristika gepatita V v Respublike Sakha (Yakutiya) / Yu.V. Lobzin, S.S. Sleptsova, M.N. Alekseyeva, A.G. Rakhmanova // *Infektsionnyye bolezni*. — 2004. — Т. 2. — № 2. — С. 13-16 (in Russian).

19. Kuzin, S.N. Geneticheskoye raznoobraziye virusa gepatita V na territorii Respubliki Sakha (Yakutiya) / S.N. Kuzin, N.N. Zabelin, E.I. Samokhvalov, S.I. Semenov, N.N. Pavlov, M.V. Terekhova, I.K. Zveryayeva, L.E. Kuzina, A.A. Kozhevnikov // Epidemiologiya i vaksinoprofilaktika. — 2008. — Т. 42. — № 5. — С. 10-15 (in Russian).
20. Tallo T., Tefanova V., Priimagi L., Schmidt J., Katargina O., Michailov M., Mukomolov S., Magnius L., Norder H. D2: major subgenotype of hepatitis B virus in Russia and the Baltic region. Journal of General Virology. 2008. V. 89. P. 1829-1839.
21. Zabortina, E.E. Epidemiologicheskiye i molekulyarnogeneticheskiye aspekty gepatitov B i C (po materialam Vladimirovskoy oblasti). Dissertatsiya na soiskaniye uchenoy stepeni kandidata meditsinskikh nauk. — Moskva. — 2011. — 133 c (in Russian).
22. Bokharai-Salim F., Keyvani H., Monavari S.H., Esghaei M., Fakhim S., Pirkooh A. Ataei, Behnav B. Distribution of hepatitis B virus genotypes in azerbaijani patients with chronic hepatitis B infection. Hepat. Mon. 2014. vol.14(12). P.e25105.
23. Azimova, S. Osobenosti klinicheskogo techeniya khronicheskogo virusnogo gepatita HBV v zavisimosti ot ego genotipov / S. Azimova, A. Dustov, M. Dzhamilov, B. Kurbonov, S. Umarov // Doklady Akademii Nauk Respubliki Tadzhiqistan. — 2011. — т. 54, №5. — С.414-418 (in Russian).
24. Maddalena D. C., Giambelli C., Tanzi E., Colzani D., Schiavini M., Milazzo L., Bernini F., Ebranati E., Cargnel A., Bruno R., Galli M., Zehender G. High level of genetic heterogeneity in S and P genes of genotype D hepatitis B virus. Virology. 2007. 365. P.113-124.
25. Semenov, A.V. K voprosu o molekulyarnoy epidemiologii gepatita B v Respublike Sakha (Yakutiya) / A.V. Semenov, Yu.V. Ostankova, V.V. Gerasimova, M.A. Bichurina, S.L. Mukomolov, A.V. Kozlov, A.A. Totolyan // Zhurnal infektologii. — 2016. — т.8(1). — С.57-65 (in Russian).
26. Andernach I.E., Nolte C., Pape J.W., Muller C.P. Slave Trade and Hepatitis B Virus Genotypes and Subgenotypes in Haiti and Africa. Emerg Infect Dis. 2009. vol.15. P. 1222 — 1228.
27. Gasich, E.L. Genotipy virusa gepatita B, tsirkuliruyushchiye v respublike Belarus / E.L. Gasich, V.F. Eremin, N.D. Kolomiyets, S.V. Sosinovich, E.G. Fisenko, V.V. Pashkovich, V.L. Zuyeva, T.A. Rogacheva, M.G. Tulinova // Zdravookhraneniye (Minsk). — 2012. — № 11. — С. 48-55 (in Russian).
28. 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. A. Rare HBV Subgenotype D4 with Unique Genomic Signatures Identified in North-Eastern India — An Emerging Clinical Challenge? PLoS One. 2014. vol.9(10). P. e109425.
29. Kramvis A., Paraskevis D. Subgenotype A1 of HBV-tracing human migrations in and out of Africa. Antivir Ther. 2013. vol.18(3 Pt B). P.513-521.
30. Hundie G.B., Raj V.S., Michael D.G., Pas S.D., Osterhaus A.D., Koopmans M.P., Smits S.L., Haagmans B.L. Molecular epidemiology and genetic diversity of hepatitis B virus in Ethiopia. J. Med Virol. 2016. vol.88(6). P.1035-1043.

Авторский коллектив:

Останкова Юлия Владимировна — научный сотрудник лаборатории молекулярной иммунологии Санкт-Петербургского научно-исследовательского института эпидемиологии и микробиологии имени Пастера; тел.: 8(812)233-20-92, +7-921-353-81-73, e-mail: shenna1@yandex.ru

Семенов Александр Владимирович — заведующий лабораторией вирусологии и иммунологии ВИЧ-инфекции, заместитель директора по инновационной работе 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, д.б.н.; тел.: 8(812) 233-34-83, e-mail: alexvsemenov@yahoo.com;

Зуева Елена Борисовна — старший научный сотрудник лаборатории экспериментальной вирусологии Санкт-Петербургского научно-исследовательского института эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, к.б.н.; тел.: 8(812) 233-20-92, e-mail: ezueva75@mail.ru ;

Габдрахманов Ильнур Агисович — начальник научно-исследовательской лаборатории НИЦ Военно-медицинской академии им. С.М. Кирова, к.м.н.; тел.: +7-921-885-37-57, e-mail: ilnur87rahmanov@yandex.ru

Козлов Константин Владимирович — доцент кафедры инфекционных болезней с курсом медицинской паразитологии и тропических заболеваний Военно-медицинской академии им. С.М. Кирова, д.м.н.; тел.: 8(812)271-87-26, e-mail: kosttiak@mail.ru

Жданов Константин Валерьевич — начальник кафедры инфекционных болезней с курсом медицинской паразитологии и тропических заболеваний Военно-медицинской академии им. С.М. Кирова, д.м.н., профессор, член-корреспондент РАН; тел.: 8(812)271-87-26, e-mail: zhdanovkv@rambler.ru

Тотolian Арег Артемович — заведующий лабораторией молекулярной иммунологии, директор 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, академик РАН; тел.: 8(812) 232-00-66, e-mail: totolian@pasteurorg.ru