

УДК 57:616.36-002.2:001.891 (571.620)

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ХРОНИЧЕСКОГО ВИРУСНОГО ГЕПАТИТА В СРЕДИ ПАЦИЕНТОВ НАНАЙСКОГО РАЙОНА ХАБАРОВСКОГО КРАЯ

В.О. Котова¹, Л.А. Балахонцева¹, Е.А. Базыкина¹, О.Е. Троценко¹,
В.Н. Бельды², С.Е. Кирдяшова²

¹ФБУН Хабаровский НИИ эпидемиологии и микробиологии Роспотребнадзора, г. Хабаровск, Россия

²КГБУЗ "Троицкая центральная районная больница", с. Троицкое, Нанайский район, Хабаровский край

Проведен молекулярно-генетический и серологический анализ 88 образцов плазмы крови от пациентов с диагнозом хронический вирусный гепатит В, проживающих на территории Нанайского района Хабаровского края. ДНК вируса гепатита В (HBV) была обнаружена в 49 (55,7±5,3%) образцах плазмы крови. На основании филогенетического анализа 48 нуклеотидных последовательностей показано, что в исследуемой группе был выявлен преимущественно генотип D HBV (81,2±5,6%, n=39), который представлен 3 субтипами: D3 (51,3±8,1%, n=20), D2 (46,1±8,1%, n=18) и D1 (2,6±2,6%, n=1). Генотип C был выявлен в 7 (14,6±5,1%), генотип A – в 2 (4,2±2,9%), образцах.

Ключевые слова: вирус гепатита В, генотип, субтип, хронический гепатит В, филогенетический анализ

MOLECULAR-GENETIC CHARACTERISTICS OF CHRONIC VIRAL HEPATITIS B IN PATIENTS OF THE NANAYSKY DISTRICT OF THE KHABAROVSK REGION

V.O. Kotova¹, L.A. Bakakhontseva¹, E.A. Bazykina¹, O.E. Trotsenko¹, V.N. Beldi²,
S.E. Kirdyashova²

¹FBIS Khabarovsk scientific research institute of epidemiology and microbiology of the Federal Service for surveillance on consumers rights protection and human wellbeing (Rosпотребнадзор), Khabarovsk, Russian Federation

²KGPFHCl "Troitsk central regional hospital", Troitsk village, Nanaysky district, Khabarovsk region

A molecular-genetic and serological analysis of 88 plasma samples collected from patients with diagnosis of chronic viral hepatitis B living on the territory of the Nanaysky district of the Khabarovsk region was performed. DNA of the hepatitis B virus (HBV) was detected in 49 (55.7±5.3%) samples. Based on the phylogenetic analysis of 48 nucleotide sequences it was shown that HBV genotype D was prevalent (81.2±5.6%, n=39) and was further divided in three subtypes: D3 (51.3±8.1%, n=20), D2 (46.1±8.1%, n=18) and D1 (2.6±2.6%, n=1). Genotype C was identified in 7 (14.6±5.1%) samples whereas genotype A in 2 (4.2±2.9%) specimens.

Key words: hepatitis B virus, genotype, subtype, chronic hepatitis B, phylogenetic analysis

Введение

Проблема вирусного гепатита В (ВГВ) остаётся одной из приоритетных в здравоохранении всего мира, в связи со значительной частотой развития хронических форм болезни и возможностью формирования неблагоприятных исходов – цирроза печени и гепатоцеллюлярной карциномы, от которых ежегодно в мире погибает более 800 000 человек [12, 16].

По данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), в мире количество инфицированных вирусом гепатита В составляет около 2 млрд. человек, у 257 млн. человек выявляются маркеры текущей хронической инфекции. Последняя характеризуется широким спектром клинических проявлений и исходов заболевания – от неактивного носительства ВГВ с низким уровнем виремии до хронического гепатита В с выраженной активностью [11, 23].

В Российской Федерации, благодаря реализации комплекса профилактических мер и, в первую очередь, широкомасштабной программе вакцинации, в рамках которой было привито 100 млн.

человек, показатели заболеваемости острым гепатитом В (ОГВ) за последнее десятилетие (с 2008 по 2017 гг.) снизились в 4,7 раза (с 4,0 до 0,86 на 100 тыс. населения) [7].

Наряду со снижением заболеваемости острыми формами гепатита В, отмечается стабильно высокий уровень заболеваемости впервые выявленными хроническими формами гепатита В. Согласно экспертным оценкам, в стране насчитывается около 3 млн. лиц с хроническими формами гепатита В и носителей вируса гепатита В [3].

Вирус гепатита В (HBV) характеризуется высокой степенью генетической гетерогенности. Активное изучение его генетического разнообразия началось в конце 1980-х гг., после того, как была установлена структура генотипов А, В, С и D [20]. В настоящее время на основании филогенетического анализа нуклеотидных последовательностей полного генома вируса гепатита В подразделяют на десять основных генотипов, в соответствии с алфавитом, обозначаемых буквами от А до J [13]. Генотип J на данный момент характеризуют как «мнимый генотип», так как обнаруженный и описанный изолят филогенетически позиционируется между вирусами гепатита В человека и обезьян [21]. Генотипы HBV являются вариантами вируса, отличающимися друг от друга структурой генома не менее чем на 8% [20]. Дальнейшее таксономическое дробление предусматривает деление генотипов на субгенотипы, имеющие более 4, но менее 8% различий в структуре генома [19]. Генотипы Е, G и H не имеют субгенотипов.

Антигенная (серологическая) классификация изолятов HBV основана на различиях в структуре поверхностного белка вируса – HBsAg и выделении 9 основных его субтипов: ауw1, ауw2, ауw3, ауw4, ауr, адw2, адw4, адrq+, адrq- [18]. При этом, нескольким генотипам может соответствовать один и тот же субтип HBsAg.

В последние годы все чаще регистрируются рекомбинантные формы HBV, возникающие при инфицировании вирусами гепатита В различных генотипов. Большинство рекомбинантных форм (60%) представляют собой рекомбинанты генотипов В/С и С/D, однако были выявлены также варианты А/В/С, А/С, А/С/G, А/D, А/Е, А/G, В/С/U (U=неизвестный генотип), С/F, С/G, С/J, D/E, D/F, F/G [21, 22].

Для каждого генотипа характерна определенная географическая и этническая зона распространенности (табл. 1). Генотип А наиболее широко распространен во всем мире и является преобладающим в странах Северной Америки, Западной Европы и Центральной Африки. Генотипы В и С характерны для стран Юго-Восточной Азии. Генотип D доминирует в странах Восточной Европы, Средиземноморья и Индии, генотип Е – в Западной Африке, генотип F – в Южной Америке и на Аляске, а генотип H – среди жителей Центральной Америки. Генотип G встречается в Германии, Франции, США. Генотип I был обнаружен в Лаосе, Вьетнаме и Китае, а генотип J был идентифицирован на острове Рюкю в Японии [10, 15, 17].

Исследования распространения генотипов HBV на территориях России немногочисленны. По результатам молекулярно-генетических исследований, проводимых в стране, установлено, что на территории Российской Федерации циркулируют 3 генотипа вируса гепатита В (D, А, С) с доминированием генотипа D. Геноварианты вируса А и С имеют меньшую частоту встречаемости [1, 2, 4, 8].

В последние годы появляется все больше данных о том, что заболевания, вызванные различными генотипами HBV, могут значительно отличаться по клиническому течению и исходам. Гепатит В, вызванный генотипами А и D, чаще принимает хроническое течение и имеет больший риск трансформации в цирроз печени и гепатоцеллюлярную карциному по сравнению с генотипами В и С. [14].

Генотип вируса может влиять на эффективность лечения хронического вирусного гепатита В (ХГВ) препаратами интерферона. Было доказано, что пациенты, инфицированные генотипами А и В вируса гепатита В, значительно лучше отвечают на лечение препаратами интерферона по сравнению с пациентами, инфицированными генотипами D и С [14].

Таким образом, определение генотипической принадлежности HBV играет важную роль для прогнозирования исхода заболевания и выбора тактики проводимой терапии.

Проведение молекулярно-генетических исследований на территориях РФ внесет значительное дополнение в существующие представления о циркуляции геновариантов HBV.

Цель работы: провести анализ генетического разнообразия вируса гепатита В (HBV), циркулирующего среди коренного населения Нанайского района Хабаровского края.

Материалы и методы

В работе была использована коллекция образцов плазмы/сыворотки крови от 88 пациентов с подозрением на хронический вирусный гепатит В, которые в 2016-2017 гг. были направлены врачом-инфекционистом КГБУЗ «Троицкая центральная районная больница» в лабораторию эпидемиологии и профилактики вирусных гепатитов и СПИДа ФБУН Хабаровский НИИ эпидемиологии и микробиологии Роспотребнадзора для проведения исследования. От всех пациентов получены информированные согласия на участие в исследовании, одобренные Комитетом по этике ФБУН Хабаровский НИИ эпидемиологии и микробиологии Роспотребнадзора. Сбор образцов крови осуществлен на базе КГБУЗ «Троицкая центральная районная больница».

Среди обследованных - 58 женщин (65,9±5,1%) и 30 мужчин (34,1±5,1%). Средний возраст пациентов составил 44,3±1,6 лет. Национальный состав исследуемой группы был следующим: 63,6% (n=56) – нанайцы, 31,8% (n=28) – русские, по 2,7% (по 2 человека) – удгейцы и эвенки.

Все образцы сывороток крови протестированы на наличие маркеров вирусного гепатита В: вирусные антигены HBsAg и HBeAg, антитела к вирусу гепатита В – анти-HBs, анти-HBe, анти-HBcor (IgG+IgM), анти-HBcorIgM, а также на наличие маркеров вирусного гепатита Д (анти-HDV IgG+IgM) и гепатита С (анти-HCVIgG+IgM). Сыворотки крови исследовали методом иммуноферментного анализа (ИФА) с помощью тест-систем производства ЗАО «Вектор-Бест», согласно инструкциям производителя.

Выделение нуклеиновых кислот из 100 мкл плазмы крови производили с использованием комплекта реагента «АмплиПрайм РИБО-преп» (ФБУН Центральный НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва), согласно инструкции производителя.

Первичный анализ на выявление ДНК HBV и определение вирусной нагрузки проводили методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с гибридизационно-флуоресцентной детекцией в режиме «реального времени» на коммерческих наборах «АмплиСенс® HBV-FL» и «АмплиСенс®HBV-Монитор-FI» (ФБУН Центральный НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва), согласно инструкциям производителя.

Для ПЦР с последующим секвенированием использовали метод двухступенчатой ПЦР со специфическими праймерами («Синтол», Россия) к консервативному участку перекрывающихся генов S и P, кодирующих поверхностный белок и ДНК-полимеразу HBV, взятыми из литературных источников (табл. 1) [5].

Таблица 1.

Праймеры, используемые в ПЦР для выявления ДНК HBV

Последовательность	Положение	Направление	Положение в геноме
5' - cctgctgggtggctccagttc-3'	Внешний	Прямой	56-75
5' - cca caattckttgacatactt tcca-3'	Внешний	Обратный	979-1003
5' –ccgagg act ggggaccct g –3'	Внутренний	Прямой	129-146
5' –ggg tag ggtttaaatgtatacc–3'	Внутренний	Обратный	823-842
5' –gtg gtggactctctcaatttc–3'	Внешний	Прямой	256-278
5' –cgg taw aaaggg act cam gat–3'	Внешний	Обратный	796-776
5' –caagggtatgttg ccc gtttg–3'	Внутренний	Прямой	455-474
5' –aaagccctgcga acc act ga–3'	Внутренний	Обратный	713-694

Условия для обоих раундов ПЦР были следующими: 94°C –10 мин., затем 35 циклов: денатурация при 94°C – 45 сек., отжиг при 55°C – 45 сек. и удлинение цепи при 72°C – 1 час.30 мин. Полученный в ходе ПЦР продукт величиной 713 п.н. определяли в электрофорезе в 2% агарозном геле.

Для определения нуклеотидной последовательности анализируемых фрагментов вирусного генома проводили прямое секвенирование ампликонов на ДНК-анализаторе модели 3500 (Applied Biosystems/Life Technologies, США). Секвенирование осуществляли с помощью набора BigDye®Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kits (AppliedBiosystems/LifeTechnologies, США) согласно протоколу производителя.

С целью выравнивания полученных нуклеотидных последовательностей использовалась программа BioEdit v.7.1.9.

Для идентификации близкородственных штаммов HBV полученные нуклеотидные последовательности анализировались в программе BLAST (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST>).

Филогенетический анализ выполняли с помощью программы MEGA версии 6.0, путем построения филогенетических деревьев методом «ближайших соседей» (neighbor joining) [6]. Нуклеотидные дистанции рассчитывали по методу Кимуры. Для оценки достоверности филогенетических связей использовали бутстрэп (bootstrap) анализ для 500 независимых построений каждого филогенетического дерева.

Результаты и обсуждение

Нанайский район является административно-территориальным районом Хабаровского края. Численность населения по состоянию на 01.01.2018 г. составляет 15962 человека. Из них 4752 являются представителями коренных малочисленных народов Севера.

Показатель заболеваемости ХГВ в Нанайском районе Хабаровского края в 2016 году составил 30,3 на 100 тыс. населения, что в 3,0 раза выше, чем в Российской Федерации (10,1 на 100 тыс.). На протяжении всего анализируемого 10-летнего периода (2007-2016 гг.) заболеваемость ХГВ в Нанайском районе была выше, чем в целом по стране и в среднем по Хабаровскому краю, а в 2009 г. эта разница достигала 6-кратного различия (рис. 1).

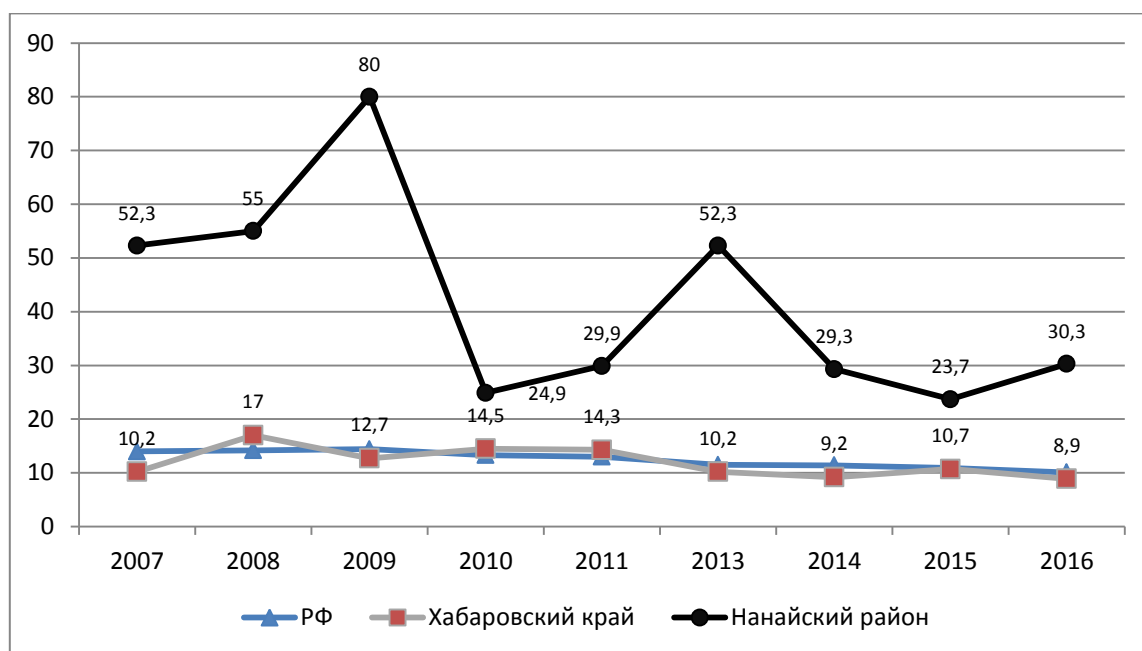


Рис. 1. Динамика заболеваемости хроническим вирусным гепатитом В в Хабаровском крае, Нанайском районе и в РФ в 2007-2016 гг. (на 100 тыс. населения)

В ходе проведенного обследования 88 жителей Нанайского района Хабаровского края с подозрением на хронический вирусный гепатит В, HBsAg обнаружен в 75 образцах ($85,2 \pm 3,8\%$). Во всех пробах выявлены анти-HBc (IgG+IgM). HBeAg был обнаружен в 1 образце ($1,1 \pm 3,5\%$). Микст-инфекции ХГВ+ХГД и ХГВ+ХГС имели 4 ($4,5 \pm 2,2\%$) и 6 ($6,8 \pm 2,7\%$) пациентов соответственно.

ДНК HBV была выявлена в 49 ($55,7 \pm 5,3\%$) образцах плазмы крови. Во всех ДНК-положительных пробах определен уровень вирусной нагрузки. У 33 ($67,3 \pm 6,7\%$) пациентов он был низкий (менее 10^4 МЕ/мл), у 7 ($14,3 \pm 5,0\%$) – средний ($10^4 - 10^6$ МЕ/мл) и у 9 ($18,4 \pm 5,5\%$) – высокий (более 10^6 МЕ/мл).

Нуклеотидные последовательности участка перекрывающихся генов S и P, кодирующих поверхностный белок и ДНК-полимеразу HBV, пригодные для проведения дальнейших исследований, получены для 48 образцов.

Проведенный молекулярно-генетический анализ показал, что на территории Нанайского района Хабаровского края, как и в целом по РФ, доминирующим является D генотип, на который в настоящем исследовании приходилось 39 из 48 проб ($81,2 \pm 5,6\%$). Генотип С был выявлен в 7 ($14,6 \pm 5,1\%$), А генотип – в 2 ($4,2 \pm 2,9\%$) образцах (рис. 2).

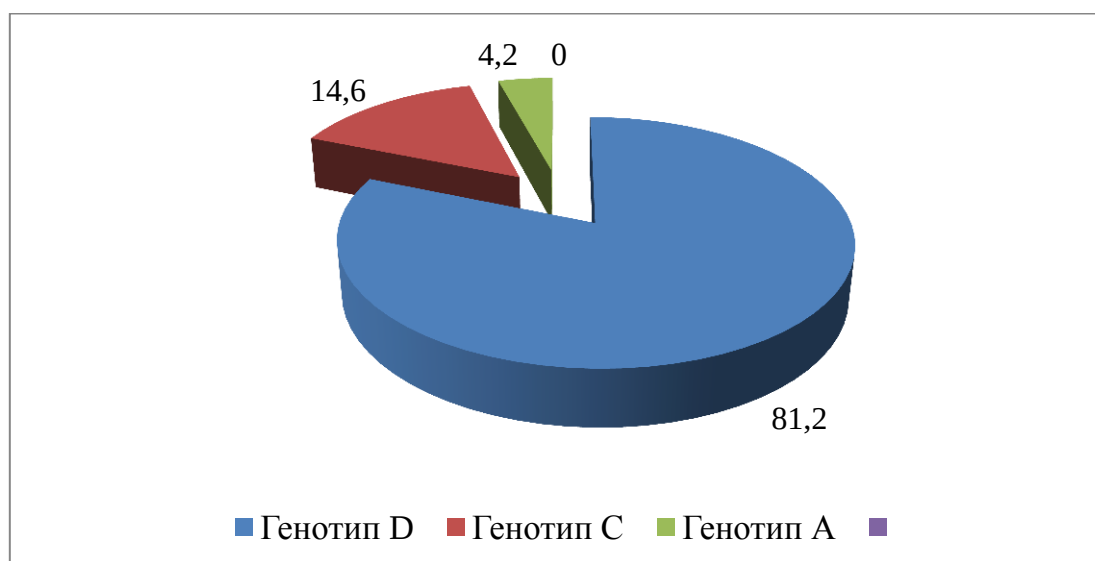


Рис. 2. Распределение генотипов HBV среди жителей Нанайского района Хабаровского края

Для выяснения происхождения и возможного родства вариантов HBV, циркулирующих на территории Нанайского района Хабаровского края, проведен филогенетический анализ 48 нуклеотидных

последовательностей ДНК HBV. В качестве референс-штаммов для анализа использовали последовательности той же области генома HBV из России и других стран мира, представленные в GenBank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank>).

На филограмме, полученные нами штаммы HBV генотипа D и штаммы, взятые из GenBank, разделились на три отдельные монофилетические группы, отличающиеся между собой по субтипам: D1, D2 и D3. Филогенетические отношения между исследованными образцами и референсными последовательностями представлены на рисунке 3.

Анализ частоты встречаемости подгенотипов D1, D2 и D3 показал, что среди пациентов незначительно преобладал субгенотип D3 ($51,3 \pm 8,1\%$, $n=20$). Субгенотипы D2 и D1 были определены в 18 ($46,1 \pm 8,1\%$) и 1 ($2,6 \pm 2,6\%$) образцах, соответственно. Полученные нами данные отчасти согласуются с ранее описанными исследованиями, согласно которым частота встречаемости субгенотипа D1 убывает с 45% в европейской части России до 12% в Дальневосточном регионе [8].

На филогенетическом дереве образец из Нанайского района, принадлежавший к субгенотипу D1, с уровнем bootstrap-поддержки 81% образовал единый кластер с образцами из Нидерландов и Китая, описанными в 2016 и 2017 годах.

Исследуемые штаммы геноварианта D2 на филогенетическом дереве не сформировали отдельных кластеров, но равномерно распределились между штаммами HBV данного субгенотипа из России (Иркутская область) и стран ближнего и дальнего зарубежья (Белоруссии, Албании, Японии, Бельгии, Индии), представленными в международной базе данных GenBank. Можно предположить, что варианты D2 подтипа распространялись на территории Нанайского района преимущественно независимыми путями, что подтверждается отсутствием крупных кластеров.

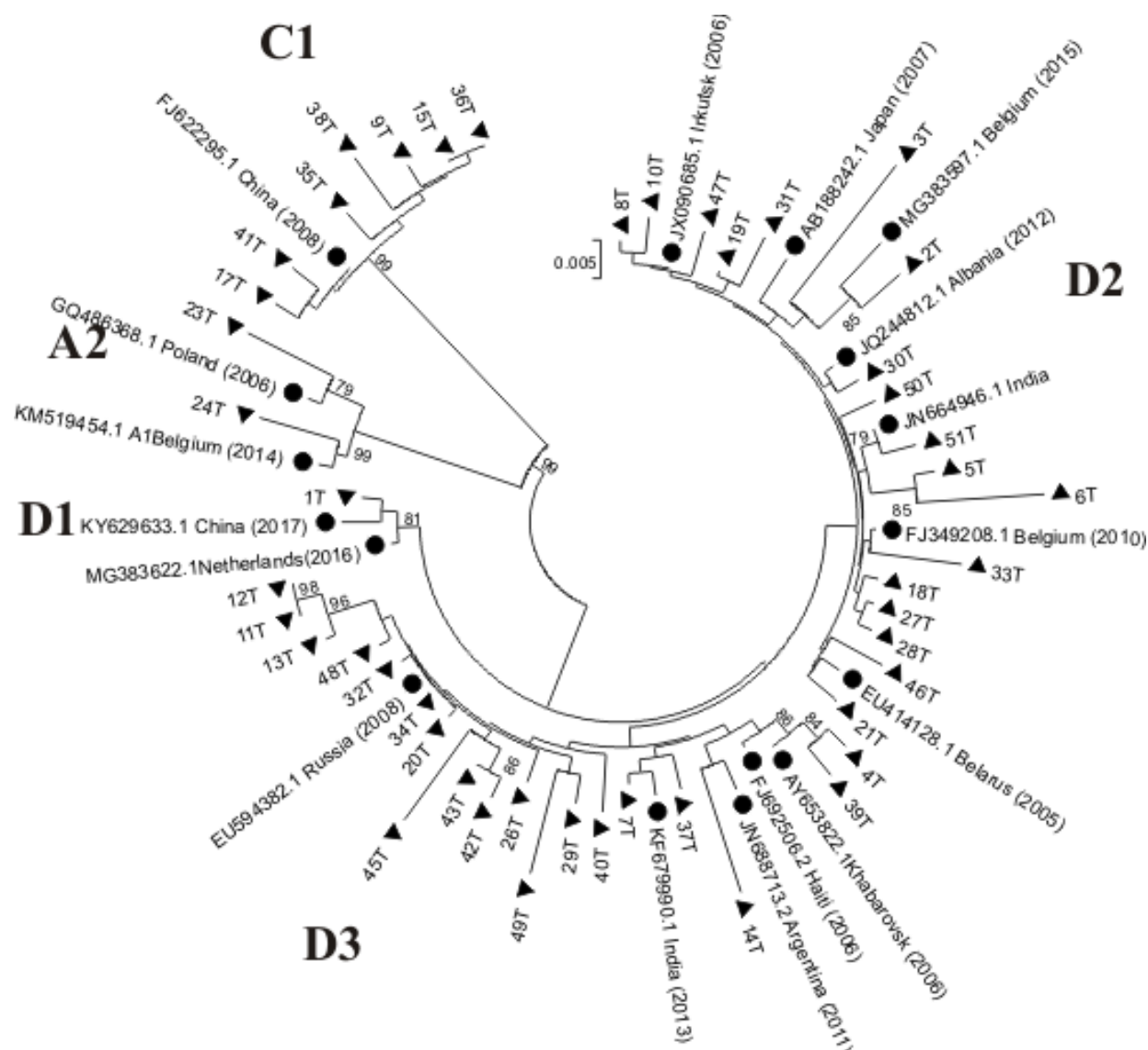


Рис. 3. Результат филогенетического анализа нуклеотидных последовательностей фрагмента генома HBV, циркулирующего среди населения Нанайского района Хабаровского края в сравнении с представленными в международной базе данных GenBank референсными последовательностями

Примечание: Филогенетическое дерево построено с помощью метода ближайших соседей. Последовательности HBV, изученные в данной работе, выделены треугольниками. Кружочками отмечены референс-последовательности HBV, которые соответствуют коду GenBank. Указаны значения бутстрэп-индекса, превышающие 70%.

Филогенетический анализ образцов субгенотипа D3 выявил формирование небольших кластеров. Один из них был образован 3 полученными в настоящем исследовании нуклеотидными последовательностями (образцы № 4, 14, 39) и генетически близкими последовательностями из GenBank, выделенными в 2006 г. в Хабаровском крае (AY 653822.1), на Гаити (FJ692506.2) и в 2011 году в Аргентине (JN688713.2). Четыре штамма, выделенные на территории Нанайского района (образцы № 11, 12, 13, 48), сгруппировались на филогенетическом дереве, образуя еще один общий кластер. При этом, высокий уровень bootstrap-поддержки (96%) между образцами 11, 12 и 13 свидетельствует о высокой генетической близости исследуемых образцов, не исключающей эпидемиологическую связь между ними.

На основании данных филогенетического анализа установлено, что генотипы А и С были представлены только одним субгенотипом – А2 и С1, соответственно.

Полученные 2 штамма HBV генотипа А (образцы 23 и 24) обладали большим генетическим сходством со штаммами субгенотипа А2 и серотипа adw2, образуя единый кластер при высоком уровне bootstrap-поддержки (99%) с Европейскими штаммами из Польши и Бельгии. Обе ветви на филограмме, принадлежащие образцам 23 и 24, имели общий узел, что может указывать на единый источник заражения.

Образцы генотипа С, 4 из 7 которых принадлежали одному семейному очагу ХГВ (в котором были инфицированы 3 брата и 1 сестра), сформировали единый кластер с образцом из Китая, зарегистрированным в GenBank. Изучение эпидемиологического анамнеза и истории заболевания каждого пациента из семейного очага позволило предположить, что заражение детей произошло от матери и вероятнее всего в первый год их жизни.

Следует отметить, что в данном исследовании взаимосвязи между вирусной нагрузкой, генотипом, субтипом вируса гепатита В обнаружено не было.

Полученные и проанализированные нуклеотидные последовательности депонированы в GenBank под №№ KX925286-KX925293, KY660194-KY660212, KY660223, KY660224, MN577814-MN577827.

Заключение

Проведенное впервые молекулярно-генетическое исследование штаммов вируса гепатита В у населения пос. Троицкого Нанайского района Хабаровского края с диагнозом ХГВ показало, что развитие эпидемического процесса гепатита В на данной территории обусловлено циркуляцией HBV трех генотипов. Наиболее распространенным (в 81,2% случаев) генотипом HBV явился, как и на большинстве территорий РФ, генотип D, представленный тремя субгенотипами D1, D2, D3. На территории района также зафиксированы генотипы С и А, которые были выявлены в 14,6% и 4,2% случаев, соответственно.

Использование молекулярно-генетических методов в системе эпидемиологического надзора за вирусным гепатитом В позволяет осуществлять мониторинг за циркулирующими генетическими вариантами HBV на каждой конкретной территории, выявлять завозные случаи заболевания, прогнозировать развитие неблагоприятных тенденций в эпидемиологической ситуации, а также подтверждать или опровергать наличие эпидемиологической связи между предполагаемым источником ВГВ и заболевшими при расследовании факта внутрисемейного инфицирования, групповых заболеваний, случаев внутрибольничного инфицирования или профессионального заражения вирусным гепатитом В.

Литература

1. Герасимова В.В., Максимова Н.Р., Левакова И.А., Мукомолов С.Л. Молекулярная эпидемиология вируса гепатита В в Якутии // Якутский медицинский журнал. – 2014. – № 3(47). – С. 54-57.
2. Елпаева Е.А., Никитина О.Е., Писарева М.М., Шилова И.В. и др. Генетические варианты вируса гепатита В у пациентов с хроническим гепатитом В // Журнал Инфектология. - 2015. - т.7, №3. - С.44-50.
3. Ивашкин В.Т. Ющук Н.Д., Маевская М.В., Знойко О.О. и др. Клинические рекомендации Российской гастроэнтерологической ассоциации и Российского общества по изучению печени по диагностике и лечению взрослых больных гепатитом В // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии и колопроктологии. – 2014. – Т.24, № 3. – С.58-88.
4. Кочнева Г.В., Мануйлов В.А., Нетесова И.Г., Чуб Е.В. и др. Генотипы и субгенотипы изолятов вируса гепатита В на территории Сибири // Проблемы Особо Опасных Инфекций. – 2011. - №3 (109). - С.31-35.

5. Кюрегян К.К., Михайлов М.И. Молекулярно-биологические основы контроля вирусных гепатитов. - М.: Издательство Икар, 2013. – 336 с.
6. Лукашев В.В. Молекулярная эволюция и филогенетический анализ. – М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2009. – 256 с.
7. О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2016 году: Государственный доклад. - М.: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 2017. - 191 с.
8. Чуланов В.П. Эпидемиологическое и клиническое значение генетической гетерогенности вирусов гепатита А и В: автореф. дис. ...д-ра. мед. наук: 14.02.02. – Москва, 2013. – 47 с.
9. Cui C., Shi J., Hui L. et al. The dominant hepatitis B virus genotype identified in Tibet is a C/D hybrid // J. Gen. Virol. – 2002. – Vol. 83. – P. 2773-2777.
10. Gao S. Clinical relevance of hepatitis B virus variants // World J. Hepatol. – 2015. – V. 7, № 8 – P.1086-1096.
11. Gerlich W.H. Medical virology of hepatitis B: how it began and where we are now // Virol. J. – 2013. – V. 10, №1. – P.2-25.
12. Hepatitis B Foundation. Hepatitis B Foundation [Internet]. Doylestown, PA. Available from: <http://www.hepb.org/>.
13. Emekdas G., Tezcan S., Aslan G. et al. Determination of hepatitis B virus genotypes in chronic hepatitis B patients in Mersin province, Turkey // Mikrobiyol. Bul. – 2012. – Vol. 46 (3). – P. 432-445.
14. Lin C.L., Kao J.H. The clinical implications of hepatitis B virus genotype: Recent advances // J. Gastroenterol. Hepatol. – 2011. – Suppl. 1. – P. 123-130.
15. Lin C.L., Kao J.H. Hepatitis B Virus Genotypes and Variants // Cold Spring Harb. Perspect. Med. – 2015. – V. 5, № 5 – P.a021436–a021436. (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4448583/>).
16. Lozano R., Naghavi M., Foreman K., Lim S. et al. Global and regional mortality from 235 causes of death for 20 age groups in 1990 and 2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010 //Lancet. – 2012. - V.380. - P.2095–2128.
17. Magnus L.O., Norder H. Subtypes, genotypes and molecular epidemiology of the hepatitis B virus as reflected by sequence variability of the S-gene // Intervirology – 1995. – V. 38, № 1-2. – P.24–34.
18. Norder H., Courouche A.M., Magnus L.O. Molecular basis of hepatitis B virus serotype variations within the four major subtypes // J. Gen. Virol. – 1992. – V.73.- P.3141–3145.
19. Norder H, Courouche A.M, Coursaget P, et al. Genetic diversity of hepatitis B virus strains derived worldwide: genotypes, subgenotypes, and HBsAg subtypes // Intervirology. – 2004. –V.47. - P.289–309.
20. Okamoto H., Tsuda F., Sakugawa H., Sastrosoewignjo RI. et al. Typing hepatitis B virus by homology in nucleotide sequence: comparison of surface antigen subtypes // J. Gen. Virol. – 1988. – Vol. 69 (Pt 10). – P. 2575-2583.
21. Tatematsu K. 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. – V.83(20). – P.10538-10547.
22. Wang Z., Liu Z., Zeng G. et al. A new intertype recombinant between genotypes C and D of hepatitis B virus identified in China // J. Gen. Virol. –2005. – Vol. 86. – P. 985-990.
23. World Health Organization. Hepatitis B. Fact sheet. (<http://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/hepatitis-b>)

Сведения об авторах:

Ответственный автор: *Котова Валерия Олеговна* – руководитель лаборатории эпидемиологии и профилактики вирусных гепатитов и СПИД ФБУН Хабаровский НИИ эпидемиологии и микробиологии Роспотребнадзора, тел.(4212)46-18-54, e-mail: dvaids@mail.ru