

# ОСОБЕННОСТИ МОЛЕКУЛЯРНОЙ ЭПИДЕМИОЛОГИИ СОЧЕТАННОЙ ИНФЕКЦИИ ВГВ/ВГД В КЫРГЫЗСТАНЕ

А.В. Семенов<sup>1,2,3</sup>, Ю.В. Останкова<sup>1</sup>, К.А. Ногойбаева<sup>4</sup>, К.Т. Касымбекова<sup>4</sup>,  
И.Н. Лаврентьева<sup>1</sup>, С.Т. Тобокалова<sup>4</sup>, Арег А. Тотолян<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия

<sup>2</sup> ГБОУ ВПО Государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия

<sup>3</sup> ГБОУ ВПО Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова, Санкт-Петербург, Россия

<sup>4</sup> Киргизский государственный медицинский институт переподготовки и повышения квалификации, Бишкек, Кыргызская Республика

**Резюме.** Одной из серьезнейших проблем здравоохранения в мире остаются гепатотропные вирусы, вызывающие хронические заболевания печени. Вирус гепатита В распространен во всем мире, около 5% носителей инфицированы также вирусом гепатита дельта. Коинфекция или суперинфекция вирусов гепатита В и D достоверно ассоциированы со значительно более тяжелыми заболеваниями печени по сравнению с инфицированием только вирусом гепатита В, что повышает внимание эпидемиологов к путям передачи и источникам вируса гепатита D. Однако обследование носителей вируса гепатита В на наличие вируса гепатита D в большинстве регионов мира не является обязательным. Следует отметить, что полного генотипического картирования вирусов гепатитов В и D, выделяемых на территории СНГ и стран бывшего СССР, все еще нет, несмотря на постоянно ведущиеся работы, посвященные генотипированию гепатотропных вирусов на территории Российской Федерации и в сопредельных государствах. В связи с тем, что одним из предполагаемых путей распространения вирусов является «трудовая миграция» жителей стран Средней Азии в другие страны и, в том числе, в Российскую Федерацию, появляется необходимость обратить внимание на ситуацию с вирусными гепатитами в этом регионе. Целью нашей работы было оценить распространенность генетических вариантов и особенности молекулярной эпидемиологии сочетанной инфекции хронического вирусного гепатита В + D в Кыргызстане. Обследовано 30 образцов плазмы от пациентов с хроническим вирусным гепатитом В и D из различных регионов Кыргызстана. На основании филогенетического анализа изолятов показано, что среди обследованных больных хроническим вирусным гепатитом В выявлен только генотип D. Показано преобладание вируса гепатита В субтипа D1 (73,34%) по сравнению с D2 (3,33%) и D3 (23,33%). Выявлен вирус гепатита D генотипа I с высокой вариабельностью участка гена, кодирующего дельта-антиген. Высокое сходство некоторых изолятов с изолятами, характерными для стран-соседей, эндемичных по гепатотропным вирусам, а также плотная кластеризация других изолятов, свидетельствуют как о множественных завозах, так и об эволюционном процессе в географически изолированном регионе, каковым является Кыргызстан. Выявление особенностей распространения и роль эндемичности в циркуляции генотипов вирусов гепатита В и гепатита D имеют большое значение.

**Ключевые слова:** гепатит D, гепатит В, сочетанная инфекция, молекулярная эпидемиология, секвенирование, Кыргызстан.

---

**Адрес для переписки:**

Останкова Юлия Владимировна  
197101, Россия, Санкт-Петербург, ул. Мира, 14,  
ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера.  
Тел.: 8 (812) 233-20-92 (служебн).  
E-mail: shenna1@yandex.ru

**Contacts:**

Julia V. Ostankova  
197101, Russian Federation, St. Petersburg, Mira str., 14,  
St. Petersburg Pasteur Institute.  
Phone: +7 (812) 233-20-92 (office).  
E-mail: shenna1@yandex.ru

**Библиографическое описание:**

Семенов А.В., Останкова Ю.В., Ногойбаева К.А., Касымбекова К.Т., Лаврентьева И.Н., Тобокалова С.Т., Тотолян Арег А. Особенности молекулярной эпидемиологии сочетанной инфекции ВГВ/ВГД в Кыргызстане // Инфекция и иммунитет. 2016. Т. 6, № 2. С. 141–150. doi: 10.15789/2220-7619-2016-2-141-150

**Citation:**

Semenov A.V., Ostankova Yu.V., Nogoybaeva K.A., Kasymbekova K.T., Lavrentieva I.N., Tobokalova S.T., Totolian Areg A. Molecular epidemiology features of HBV/HDV co-infection in Kyrgyzstan // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2016, vol. 6, no. 2, pp. 141–150. doi: 10.15789/2220-7619-2016-2-141-150

**MOLECULAR EPIDEMIOLOGY FEATURES OF HBV/HDV CO-INFECTION IN KYRGYZSTAN****Semenov A.V.<sup>a,b,c</sup>, Ostankova Yu.V.<sup>a</sup>, Nogoybaeva K.A.<sup>d</sup>, Kasymbekova K.T.<sup>d</sup>, Lavrentieva I.N.<sup>a</sup>, Tobokalova S.T.<sup>d</sup>, Totolian Areg A.<sup>a,b</sup>**<sup>a</sup> *St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation*<sup>b</sup> *Pavlov First St. Petersburg State Medical University, St. Petersburg, Russian Federation*<sup>c</sup> *North-West State Medical University named after I.I. Mechnikov, St. Petersburg, Russian Federation*<sup>d</sup> *Kyrgyz State Medical Institute of Retraining and Skills, Bishkek, Kyrgyz Republic*

**Abstract.** One of the most serious health problems in the world are hepatotropic viruses that cause chronic liver disease. Hepatitis B virus is distributed globally; around 5% of the carriers are also infected with hepatitis delta virus. Co-infection or superinfection of hepatitis viruses B and D significantly associated with a much more severe liver disease, compared with infection only hepatitis B virus. However, examination of hepatitis virus B carriers for the presence of hepatitis D virus in most regions of the world is not mandatory. It should be noted that the complete genotype mapping of viruses hepatitis B and D isolated on the territory of the CIS and the countries of the former Soviet Union, there is not yet, despite the constantly ongoing works devoted genotyping hepatotropic virus in the territory of the Russian Federation and neighboring countries. Due to the fact that one of the prospective ways of spreading viruses is the “labor migration” the inhabitants of Central Asia in other countries, including the Russian Federation, there is a need to pay attention to the situation of viral hepatitis in the region. The aim of our study was to estimate the prevalence of genetic variants and characteristics of molecular epidemiology of chronic viral hepatitis co-infection B + D in Kyrgyzstan. The study involved 30 plasma samples from patients with chronic viral hepatitis B and D from different regions of Kyrgyzstan. Based on the phylogenetic analysis of the isolates showed that among patients examined HBV identified only D genotype. Based on the phylogenetic analysis of the isolates indicated that among the examined patients with chronic viral hepatitis B revealed only genotype D. It is shown prevalence of HBV subtype D1 (73.34%) compared to the HBV subtype D2 (3.33%) and D3 (23.33%). Revealed HDV genotype I with highly variable region of the gene encoding the delta antigen. The high similarity of some isolates with strains specific to neighboring countries endemic for hepatotropic viruses, as well as a dense clustering of other isolates may be an indication of numerous independent drifts of strains into the territory of the country. Also it can talk about the speed of evolution of the virus in a geographically isolated region as Kyrgyzstan. Identification of the propagation characteristics and endemics role in circulation of genotype of hepatitis B and D is great importance.

**Key words:** *hepatitis D, hepatitis B, co-infection, molecular epidemiology, sequencing, Kyrgyzstan.*

**Введение**

Одной из серьезнейших проблем здравоохранения в мире остаются гепатотропные вирусы, вызывающие хронические заболевания печени. Вирусный гепатит В (ВГВ) широко распространен во всем мире и является эндемичным для многих популяций. Различные регионы мира демонстрируют высокую распространенность ВГВ (> 8%) — страны Африки и Азии, и низкую распространенность вирус (< 2%) — страны Европы и Северной Америки. Общее количество инфицированных в мире, по оценкам ВОЗ, составляет почти 2 млрд человек, для 400 млн из них показан хронический вирусный гепатит В (ХВГВ), являющийся одной из причин тяжелых заболеваний печени, к которым относятся цирроз и гепатоцеллюлярная карцинома [4]. Наиболее склонны к развитию хронических инфекций дети, инфицированные ВГВ до 6 лет. Инфицирование в зрелом возрасте приводит к развитию хронического гепатита менее чем в 5% случаев, однако среди этой группы пациентов показана высокая частота развития цирроза или рака печени. Предположительно почти 80% случаев гепатоцеллюлярной карциномы во всем мире обусловлено ВГВ. Клинические проявления ХВГВ многообразны и зависят от многих факторов,

в том числе от биологических свойств вируса, длительности заболевания, уровня вирусной нагрузки, мутаций вируса, экологических и генетических факторов.

Так, например, генотип ВГВ связан с ответом на лечение интерфероном, а также является предиктором клинического исхода инфекции. Генотип D ассоциирован с HBeAg отрицательным ХВГВ, а также с высокими темпами развития цирроза [14]. Генотипы А и В более чувствительны к лечению интерфероном, чем генотипы D и С [3].

В связи с использованием обратной транскриптазы в процессе репликации вируса, ВГВ свойственна высокая степень генетической гетерогенности. На основании филогенетического анализа ВГВ подразделяют на десять генотипов, распространенных в различных географических регионах мира и 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% [32].

Около 5% носителей ВГВ, по средней оценке 15–20 млн человек, инфицированы также вирусом гепатита дельта (ВГД), неполным РНК-содержащим вирусом, способным реплицироваться только в присутствии ВГВ. Коинфекция

или суперинфекция ВГВ и ВГД достоверно ассоциированы со значительно более тяжелыми заболеваниями печени по сравнению с моноинфекцией ВГВ, что повышает внимание эпидемиологов к путям передачи и источникам ВГД, в особенности к гиперэндемичным регионам и странам [11, 12]. Так, например, для гиперэндемичной по ВГД Румынии показано значительное преобладание больных с коинфекцией ВГВ ВГД с циррозом печени (43,4%) по сравнению с больными без цирроза (19%) [18]. В другой работе риск развития гепатоцеллюлярной карциномы при ВГД-инфицировании в 3,2 раза превышал риск развития при моноинфекции [15]. Также следует отметить, что уровень РНК ВГД выше 600 000 копий/мл является предсказательным маркером развития тяжелых патологий печени, а после развития цирроза значимость вирусной нагрузки как предиктора уменьшается [26].

Оценка маркеров репликации ВГД у больных с ХВГВ с активным течением инфекции и выраженными биохимическими маркерами повреждения печени показала высокую частоту встречаемости ВГД с серонегативным течением [7]. Выявление антител к ВГД может указывать не только на продолжающуюся или перенесенную инфекцию с ВГД, но и на инфицирование ВГВ. Однако обследование носителей ВГВ на наличие ВГД в большинстве регионов мира не является обязательным, несмотря на то, что совместное инфицирование с ВГД связано с ускоренным прогрессированием фиброза и повышенным риском развития гепатоцеллюлярной карциномы.

Несмотря на то, что ВГД демонстрирует значительную генетическую изменчивость, на настоящее время охарактеризовано 8 генотипов. Расхождение в нуклеотидных последовательностях между описанными генотипами составляет 19–38%, а внутри генотипов до 15,7%. Генотип 1 представлен практически во всех географических регионах мира. Генетическое разнообразие ВГД генотипов 2–8 связано с географическим происхождением изолятов: генотипы 2 и 4 распространены в Японии, Тайване, а 2 генотип, кроме того, был обнаружен в Якутии. Генотип 4 характерен для района Амазонки, генотипы 5, 6, 7 — для Африки.

Очевидно, что, как и другие гепатотропные вирусы, ВГД распространен по всему миру, однако частота встречаемости в разных странах различается. Следует отметить, что распространенность ВГД в тех или иных географических регионах не зависит от распространенности ВГВ, несмотря на его обязательность для естественного течения ХВГД. При этом динамика распространения вируса имеет сложную структуру и приводит к расширению ареалов эндемичности за счет высокой генетической вариабельности.

Хотя введение в клиническую практику в промышленно развитых странах эффективной вакцины против ВГВ значительно снизило не только распространенность ВГВ, но и циркуляцию ВГД, в последние годы наблюдается тенденция к смещению распространенности тех или иных генотипов ВГВ в различных географических ареалах, а также возвращение ВГД в Западную Европу путем иммиграции из высокоэндемичных регионов мира, таких как Африка, Азия, Южная Америка, при этом филогеография распространенности субтипов ВГВ и ВГД может служить маркером миграции человека [9, 27].

Следует отметить, что полного генотипического картирования изолятов ВГВ, а тем более ВГД, выделяемых на территории СНГ и стран бывшего СССР все еще нет, несмотря на постоянно ведущиеся работы, посвященные генотипированию гепатотропных вирусов на территории РФ и в сопредельных государствах. Однако на большей части территории бывшего СССР и в странах Балтийского региона преобладает ВГВ субтипа D2, показаны субтипы A2 и D3 [31]. Данные о генотипическом разнообразии ВГД малочисленны и свидетельствуют о распространении на интересующих нас территориях преимущественно ВГД генотипа 1. Кроме того в Республике Саха (Якутия) выявлен ВГД генотипа 2.

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, появляется необходимость обратить внимание на ситуацию с вирусными гепатитами в этом регионе.

В 2010 г. страны средней Азии вошли в десятку стран с наибольшей смертностью от вирусного цирроза, пятое место занимает Кыргызстан, а Узбекистан и Туркменистан — седьмое и восьмое соответственно [24]. При этом уровень заболеваемости ХВГВ и ХВГД в Кыргызстане сходен: 23 и 21 на 100 тыс. человек соответственно; наблюдается рост заболеваемости ВГВ (до 71 на 100 тыс. человек в Иссык-Кульской области) и ВГД (до 62 на 100 тыс. человек в г. Оше) [5].

Анализ генотипов ВГВ в Таджикистане показал преобладание генотипа D (94,1%) по сравнению с генотипом A (5,8%) [22]. ВГВ генотипа D также преобладал в Узбекистане (87%), по сравнению с гепатитом A (13%) [20].

Следует отметить, что в РФ лидирующие позиции по уровню заболеваемости хроническим гепатитом В принадлежат Северо-Западному и Дальневосточному округам, куда направлены основные потоки миграции из Средней Азии [2]. При этом прибывающие мигранты в большинстве случаев не знают о своих заболеваниях и избегают медицинского обследования на опасные инфекции, так как опасаются депортации. Более того, было показано, что 46,4% приезжих из Уз-

бекистана, Таджикистана, Казахстана, Кыргызстана вообще не слышали о гепатите, а среди тех, кто слышал — только 37,3% правильно ответили на вопрос: какой орган поражается при этом заболевании; 28,8% назвали один, два или три пути заражения [1].

Таким образом, представляется очевидной необходимость оценки молекулярно-эпидемиологической ситуации не только в РФ, но и в территориально и социально близких высокоэндемичных по вирусному гепатиту странах.

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

Целью нашей работы было изучение особенностей генетической структуры сочетанной инфекции ХВГВ+D в гиперэндемичном по вирусному гепатиту регионе Кыргызстана.

## Материалы и методы

Исследование было одобрено комитетом по этике Санкт-Петербургского ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера. Все пациенты дали письменное информированное согласие на участие в исследовании.

В работе были использованы образцы плазмы крови 30 больных с верифицированным вирусным гепатитом В и гепатитом D, полученные от коренных жителей Кыргызстана.

Для первичного выявления ВГВ и ВГД из плазмы крови выделяли нуклеиновые кислоты (НК) с использованием коммерческого набора «АмплиПрайм Рибо-преп» (ФБУН ЦНИИЭ, Москва). Для всех образцов проводили предварительное концентрирование вируса ультрацентрифугированием плазмы крови в течение 1 ч при 24 000g, +4°C. Обратную транскрипцию для ВГД проводили на неспецифичных праймерах с использованием коммерческого набора реагентов «Реверта-Л» (ФБУН ЦНИИЭ, Москва) для синтеза первой цепи кДНК согласно инструкции производителя. Реакцию останавливали нагреванием в течение 5 мин при 70°C. Анализ присутствия вируса проводили методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с гибридационно-флуоресцентной детекцией в режиме «реального времени» с помощью наборов «АмплиСенс® HBV-FL», «АмплиСенс® HDV-FL» (ФБУН ЦНИИЭ, Москва) соответственно.

Для углубленного анализа ВГВ проводили выделение ДНК из плазмы крови в соответствии с методикой, приведенной в руководстве Самбрук и др. с некоторыми модификациями [29].

Выделение РНК ВГД из крови проводили методом гуанидин тиоцианат-фенол-хлороформной экстракции с использованием тризола (TRIzol® Reagent, Invitrogen, США) в соответ-

ствии с измененным нами протоколом методики Хомчинского и др. [13].

Для ПЦР в общем виде использовали следующий состав амплификационной смеси: 15 пМ каждого олигопраймера, 1,0 мМ каждого нуклеозидтрифосфата, 6,7 мМ MgCl<sub>2</sub>, 1 ед. рекомбинантной Taq ДНК-полимеразы (Fermentas), буфер для Taq ДНК-полимеразы (750 мМ Трис-НСl (рН 8,8), 200 мМ (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 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 мин 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; 1 × TBE), окрашенном бромистым этидием.

Для амплификации, секвенирования и детекции продукта использовали специфические праймеры (Синтол, Россия), последовательность которых брали из литературных источников, а также подбирали с помощью программы NCBI/Primer-BLAST согласно общепринятым рекомендациям.

Для ВГВ использовали перекрывающиеся пары праймеров, совместно фланкирующие фрагмент протяженностью 1475 пар оснований (п.о.), включающий рекомендованный 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) [10].

Для ВГД использовали праймеры, фланкирующие фрагмент кДНК гипервариабельного участка гена, кодирующего дельта-антиген, длиной 397 нт, с 890 по 1287 нт, согласно представленному в международной базе данных GenBank изоляту (X04451) [21].

Секвенирующую реакцию проводили согласно инструкции к набору GenomeLab™ DTCS — Quick Start Kit (Beckman Coulter Inc., США), в трех повторях, на прямых и обратных праймерах. Реакционная смесь для секвенирующей реакции включала: DTCS Quick Start Master Mix (8 мкл), прямой или обратный праймер (1,6 мкМ), очищенный продукт амплификации (объем зависел от концентрации), воду до конечного объема 20 мкл. Постановку реакции осуществляли на термоциклере BIO-RAD CFX384 в режиме: 30 циклов амплификации 96°C — 20 с; 50°C — 20 с; 60°C — 4 мин.

Продукты первичной амплификации и секвенирующей реакции очищали по следующей методике: смесь из 2 мкл 3М ацетата натрия, 2 мкл 0,125М EDTA и 1 мкл гликогена вносили в 20 мкл продукта амплификации и инкубировали при комнатной температуре в присутствии охлажденного 96% этилового спирта 15 мин.

Центрифугировали при 14 000 об./мин, 4°C, 15 мин. Супернатант удаляли и дважды промывали осадок охлажденным 70% этиловым спиртом, повторяя процедуру центрифугирования на холоде. Промытый осадок сушили.

Для контроля качества очищения продуктов амплификации осадок растворяли в 30 мкл воды и проводили оценку в 1,5% агарозном геле с добавлением раствора бромистого этидия (0,5 мкг/мл), визуализировали в ультрафиолетовом свете на трансиллюминаторе. Очищенный фрагмент достаточной концентрации использовали для постановки секвенирующих реакций.

Для анализа продукта секвенирующей реакции очищенный осадок растворяли в SLS-буфере, содержащем формамид, и помещали в генетический анализатор GenomeLab GXp (Beckman Coulter).

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 версия 5, используя алгоритм ClustalW [19]. Поскольку для всех выбранных для секвенирования регионов вирусных гепатитов показана высокая 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 [28].

## Результаты

Во всех 30 образцах ВГВ был выявлен. Для всех выявленных вирусов 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 30 изолятов показано, что среди обследованных больных выявлен только генотип D, являющийся наиболее распространенным генотипом ВГВ в Центральной Азии. При этом преобладает ВГВ субтипа D1 (73,34%) по сравнению с ВГВ субтипа D2 (3,33%) и субтипа D3 (23,33%) (рис. 1).

При анализе последовательностей фрагмента процент нуклеотидной идентичности в группе составил  $98,06 \pm 0,5\%$ .

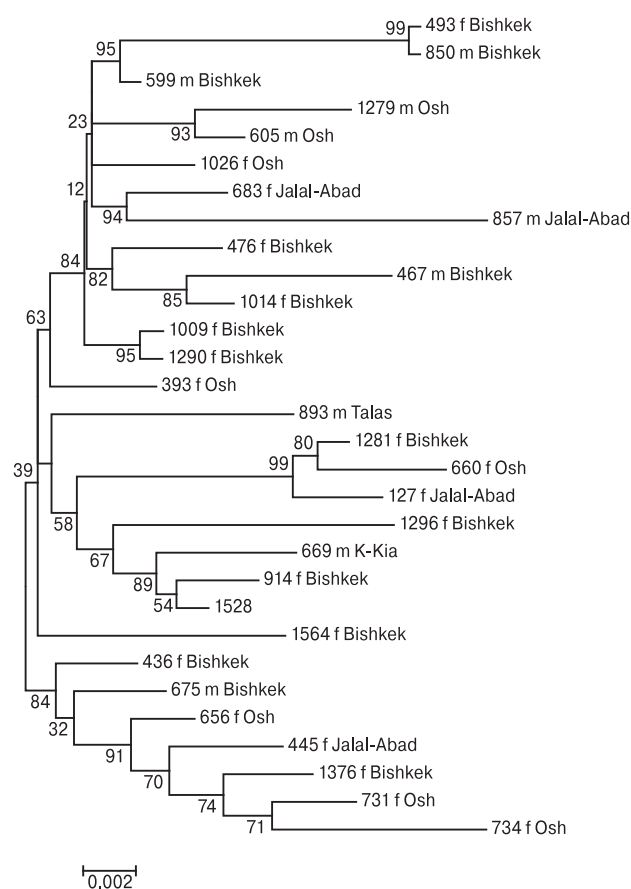
Ранее, при исследовании этой группы на ВГД, был выявлен только ВГД наиболее распространенного в мире генотипа I [6]. Однако в связи с некоторым расширением группы, а также для

совместного рассмотрения с ВГВ был проведен дополнительный анализ последовательностей ВГД (рис. 2).

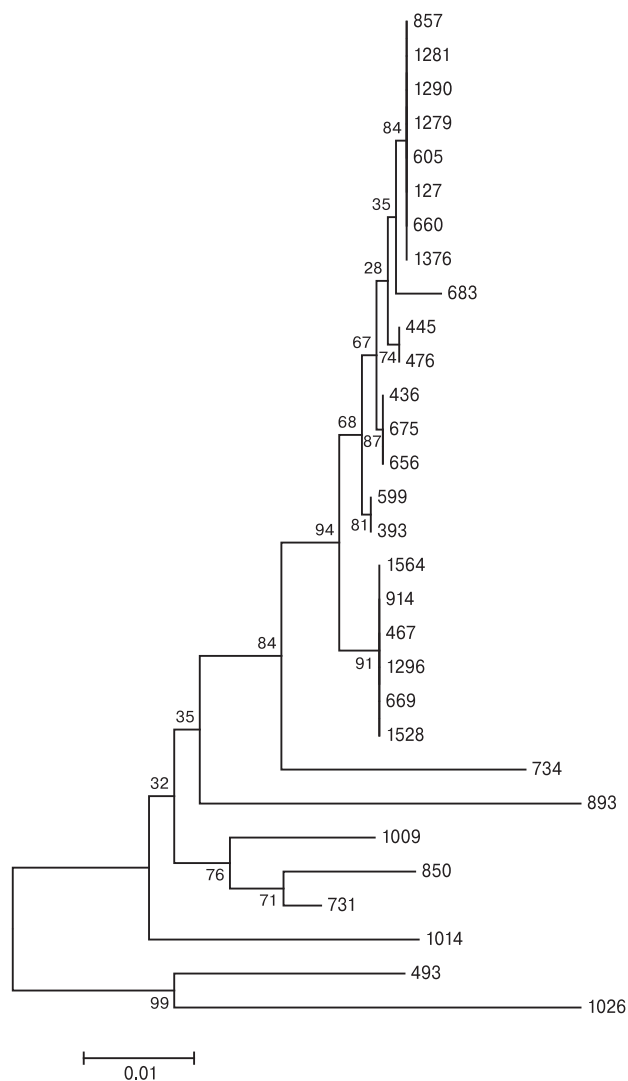
## Обсуждение

Показано, что половая принадлежность не является значимым фактором для распределения субтипов ВГВ в исследованной группе, в отличие от Центральной Африки, где преобладает распространенность ВГВ и ВГД у детей женского пола в первые 10 лет жизни, а у лиц мужского пола — в возрасте 11–20 лет [17]. Вероятнее всего, причиной этого отличия является значительно более развитое санитарное просвещение в Азии по сравнению с Центральной Африкой, так как исследователи показывали преимущественную внутрисемейную передачу вирусов между детьми через различные жидкости тела, что, по всей видимости, не характерно для более развитых стран.

Мы не выявили в распределении субтипов связи с географическими регионами. Так, например, пациенты с ВГВ субтипа D3, внутригрупповой процент нуклеотидной идентичности которых составил более 98,71%, происходили



**Рисунок 1. Дендрограмма, характеризующая филогенетические отношения изолятов ВГВ, выделенных от пациентов с ХВГВ+D из разных регионов Кыргызстана**



**Рисунок 2. Дендрограмма, характеризующая филогенетические отношения изолятов ВГD, выделенных от пациентов с ХВГВ+D из разных регионов Кыргызстана**

из разных регионов республики: Бишкека, Оша, Джалал-Абада. Это подтверждает связь распространенности тех или иных генотипов и/или субтипов в различных группах с путями передачи, а не с географической близостью регионов.

Несмотря на то, что ранее несколько исследовательских групп в Средней Азии выявляли не только ВГВ генотипа D, но также и генотипы A и C, распространенность тех или иных генотипов в отдельных странах и регионах этого ареала мало изучена. Генотипирование и глубокое субтипирование изолятов ВГВ в Кыргызстане проведено впервые в данной работе.

Как известно, ВГВ генотипа D широко распространен во всем мире, при этом субтипы D1–D3 в той или иной степени встречаются повсеместно. Эпидемиологически история эволюции D-генотипа и его субтипов по-прежнему неясны из-за недостаточности соответствующих исследований. Однако некоторые ученые считают

Центральную Азию наиболее вероятным регионом происхождения общего предка ВГВ субтипов D1–D3, впоследствии распространившихся в Европу и Средиземноморье [34].

Существенной причиной для исключительного преобладания в исследованной нами группе ВГВ генотипа D может являться вакцинация населения. Представленные в группе пациенты не делали прививок против ВГВ и, вероятнее всего, были инфицированы преимущественно горизонтальным путем передачи вируса, тогда как ранее было показано, что после введения вакцинации в Средней Азии четко разделились пути передачи вируса и его генотипы. То есть ВГВ генотипа C передавался только перинатальным путем, в то время как генотип D у не привитых людей распространялся горизонтально [8].

Говоря о путях заражения, следует отметить, что, согласно представленной дендрограмме, выделяются три кластера происхождения вируса. При этом ВГВ характерного для Центральной Азии субгенотипа D1 имеет не только более широкое распространение, но и несколько независимых источников инфицирования. При анализе последовательностей общей группы изолятов субтипа D1 процент идентичности нуклеотидов составил  $98,18 \pm 0,4\%$ , однако процент идентичности был выше, а количество нуклеотидных модификаций меньше при изолированной оценке идентичности кластеров D1.

Обращает на себя внимание группа, включающая образцы 436, 445, 656, 675, 731, 734, 1376, так как, несмотря на разные географические регионы, очевиден общий инфекционный предок. При этом образцы 731 и 734 являют собой, вероятнее всего, случай вертикальной передачи вируса от матери к дочери. Подтверждают это предположение выявленные в нуклеотидных последовательностях различия, суммарно составившие 13 нуклеотидных замен, которые, учитывая скорость мутирования, не могли бы появиться при сравнительно недавней внутрисемейной горизонтальной передаче вируса. Тем не менее, в данном случае такой вариант мы не можем исключить. Косвенным подтверждением нашего предположения является семейный анамнез, согласно которому все пятеро детей пациентки (образец 731) больны ХВГВ. Интересно отметить, что из всех детей только у двоих выявлен ВГD, при этом при анализе нуклеотидной идентичности ВГD образцов 731 и 734 сходство составило 95%. Таким образом, в то время как ВГВ в семье передавался вертикальным путем, ВГD в данной социальной ячейке появился значительно позже, и не исключено, что из независимых источников.

Еще один семейный случай инфицирования, представленный в нашей работе, свидетельствует о сравнительно недавнем горизонтальном переносе ВГВ между партнерами, так как при анализе нуклеотидных последователь-

ностей образцов 493 (жена) и 850 (муж) процент идентичности составил 99% при единственной однонуклеотидной замене. При этом инфицирование ВГД более позднее и из независимых источников — нуклеотидная идентичность последовательности ВГД образцов 493 и 850 составила 93%.

В отличие от субтипа D1, для ВГВ субтипа D3 показано преимущественное распространение с инъекционными наркотиками [30]. При анализе последовательностей изолятов субтипа D3 процент идентичности нуклеотидов составил 98,71%. Наше предположение о возможном пути заражения подтверждается не только очевидным происхождением вируса от общего источника, согласно дендрограмме, но и косвенно подтверждается разделением ВГД в данной группе на две подгруппы, соответствующие подгруппам ВГВ D3 (рис. 2). Почти все пациенты из данной группы социально обеспеченные женщины, что, казалось бы, противоречит предположению о заражении в среде употребляющих наркотики. Однако по некоторым

данным, в настоящее время возраст большего числа наркоупотребляющих в Кыргызстане составляет около 30–45 лет, большинство из них дети обеспеченных родителей, инфицированные на рубеже XX–XXI вв., когда употребление инъекционных наркотиков получило широкое распространение в странах бывшего СССР. При этом показано, что смертность женщин среди употребляющих инъекционные наркотики значительно выше, чем мужчин [33]. По всей видимости, ВГД в среде употребляющих наркотики в данном регионе появился сравнительно недавно и, судя по кластеризации, из близких эндемичных источников, что не позволяет исключить вероятность по крайней мере вторичного инфицирования в медицинских учреждениях Кыргызстана.

Выявление близких по нуклеотидному составу изолятов в пределах субтипа у больных из разных географических регионов может означать общее происхождение изолятов, а также свидетельствовать о поздних эпидемиологических связях.



**Рисунок 3.** Дендрограмма, характеризующая филогенетические отношения изолятов ВГВ генотипа D из Кыргызстана, проанализированных в настоящем исследовании в сравнении с представленными в международной базе данных GenBank последовательностями ранее полученных изолятов ВГВ

При сравнительном филогенетическом анализе изолятов ВГВ генотипа D, выявленных в нашей работе, и изолятов из Средней Азии и других стран, представленных в международной базе данных GenBank, становится очевидно, что и среди изолятов D1, и среди изолятов D3 происходит разделение на группы (рис. 3).

При этом для одной из групп сходные по нуклеотидному составу изоляты обнаруживаются на обширных территориях, а высокое сходство изолятов с описанными в международной базе данных образцами, характерными для Монголии, Судана, Китая могут свидетельствовать о многочисленных независимых завозах патогена, в том числе в ходе крупных миграционных волн из этого обширного региона на территорию Центральной Азии в целом и на территорию Кыргызстана в частности. Другая группа представлена изолятами, практически не показанными где бы то ни было ранее, что, по всей видимости, демонстрирует независимую гомологичную эволюцию вируса в данном регионе.

Полученные данные о единовременности циркуляции занесенных из различных источников патогенов и изолятов, характерных только для данного региона, являются генетическим и эпидемиологическим свидетельством не только высокой эндемичности региона по ВГВ и ВГД, но и существования особых путей передачи гиперэндемичных изолятов ВГВ, распространенных в разных городах Кыргызстана, и по каким-то причинам не выходящих за пределы данного сравнительно закрытого географического ареала.

Единственный выявленный в нашем исследовании изолят ВГВ субтипа D2 образец 893 представляет собой интересный случай завоза. При первичном анализе выявление практически не встречающегося в Центральной Азии субтипа D2, а также изолированность от остальных образцов не только ВГВ, но и ВГД данного образца, было высказано предположение о завозе изолята с территории РФ. Однако при дальнейшем анализе было показано относительное сходство образца не только с изолятами, описанными на территории РФ, но и с ранее обнаруженным в Таджикистане. Учитывая упоминавшиеся ранее высокие частоты распространяемости гепатотропных вирусов в ходе миграций, в том числе так называемых «трудовых миграций», представляется очевидным завоз вируса извне. Однако, учитывая низкую распространенность ВГВ субтипа D2 в Центральной Азии и, напро-

тив, высокую в РФ, — мы, вероятно, имеем дело с «обратным» завозом, и не можем исключить возможность «опосредованного» завоза. Тем не менее, данный случай подтверждает необходимость дальнейших молекулярно-эпидемиологических исследований ВГВ и ВГД не только в РФ, но и в странах ближнего зарубежья для выявления путей инфицирования.

Следует отметить, что, несмотря на уже упоминавшееся выше предположение о значимости уровня РНК ВГД выше 600 000 копий/мл для предсказания развития тяжелой патологии печени, при разделении исследованной нами группы по вирусной нагрузке ВГД, не было выявлено корреляции между уровнем РНК ВГД, состоянием печени больных и субтипами ВГВ и/или ВГД. Однако, согласно данным других исследователей, сочетанная инфекция ВГВ + ВГД повышает риск развития повреждения печени по сравнению с моноинфекцией ВГВ, независимо от уровня вирусной нагрузки [16].

Возможно, это объясняется тем, что, независимо от наличия ко- или суперинфекции с ВГД, ВГВ генотипа D в целом коррелирует с более тяжелыми заболеваниями печени, и более высоким уровнем лекарственной устойчивости по сравнению с другими генотипами этого вируса [23]. При этом для субтипа D1 характерна низкая вирусная нагрузка и ранняя сероконверсия HBeAg, что может создавать проблемы для своевременного выявления вируса у пациентов и, в свою очередь, приводит к развитию более тяжелого заболевания печени и, несомненно, усугубляется наличием ВГД [25].

## Заключение

Выявление особенностей распространения и роль эндемичности в циркуляции определенных генотипов сочетанной инфекции ВГВ + ВГД имеют существенное значение как для регионов РФ, так и для наших ближайших соседей, где распространенность гепатотропных вирусов высока, а структура генома и пути их распространения недостаточно изучены.

Масштабный скрининг ВГВ и ВГД 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.

## Список литературы/References

1. Иванова Л.Ю. Информированность трудовых мигрантов из разных регионов об опасных инфекционных заболеваниях: ВИЧ, ИППП, туберкулез, гепатит (на материалах опроса иностранных работников в Санкт-Петербурге // Социальные аспекты здоровья населения. 2015. Т. 4, № 44. [Ivanova L.Yu. Awareness of labor migrants from different regions about dangerous infectious diseases: HIV, STID, tuberculosis, hepatitis (based on survey of foreign workers in St. Petersburg). *Sotsial'nye aspekty zdorov'ya naseleniya = Social Aspects of Public Health*, 2015, vol. 4, no. 44. (In Russ.)]. URL: <http://vestnik.mednet.ru/content/view/702/30/lang.ru>



2. Мукомолов С.Л., Михайлов М.И. Применение иммуноглобулина против гепатита В для профилактики этой инфекции // Эпидемиология и инфекционные болезни. Актуальные вопросы. 2014. № 1. С. 47–54. [Mukomolov S.L., Mikhailov M.I. Use of immunoglobulin against hepatitis B to prevent this infection. *Epidemiologiya i infeksionnye bolezni. Aktual'nye voprosy = Russian Journal of Epidemiology and Infectious Diseases. Topical issues*. 2014, no. 1, pp. 47–54. (In Russ.)]
3. Мукомолов С.Л., Левакова И.А. Эпидемиологическая характеристика хронических вирусных гепатитов в Российской Федерации в 1999–2009 гг. // Инфекция и иммунитет. 2011. Т. 1, № 3. С. 255–262. [Mukomolov S.L., Levakova I.A. Epidemiological characteristics of chronic viral hepatitis in the Russian Federation in 1999–2009. *Infektsiya i immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity*, 2011, vol. 1, no. 3, pp. 255–262. doi:10.15789/2220-7619-2011-3-255-262 (In Russ.)]
4. Нечаев В.В., Мукомолов С.Л., Назаров В.Ю., Пожидаева Л.Н., Чахарьян В.В. Хронические вирусные гепатиты: прошлое, настоящее, будущее // Эпидемиология и инфекционные болезни. 2013. № 3. С. 4–10. [Nechaev V.V., Mukomolov S.L., Nazarov V.Yu., Pozhidaeva L.N., Chakhar'yan V.V. Chronic viral hepatitis: past, present, future. *Epidemiologiya i infeksionnye bolezni = Russian Journal of Epidemiology and Infectious Diseases*, 2013, vol. 3, pp. 4–10. (In Russ.)]
5. Ногойбаева К.А., Тобокалова С.Т., Касымбекова К.Т., Заирова Г.М. Динамика заболеваемости хроническим гепатитом В в форме моноинфекции и в сочетании с гепатитом D в Кыргызской Республике за период 2010–2012 гг. // Казанский медицинский журнал. 2014. Т. 95, № 6. С. 921–924. [Nogoybaeva K.A., Tobokalova S.T., Kasymbekova K.T., Zairova G.M. Trends for incidence of chronic hepatitis B monoinfection and chronic hepatitis B+D co-infection in the Kyrgyz Republic for the period of 2010–2012. *Kazanskii meditsinskii zhurnal = Kazan Medical Journal*, 2014, vol. 95, no. 6, pp. 921–924. (In Russ.)]
6. Останкова Ю.В., Ногойбаева К.А., Семенов А.В., Тотолян Арег А. К вопросу о молекулярной эпидемиологии гепатита D в Кыргызстане // Медицинский академический журнал. 2015. Т. 15, № 2. С. 73–78. [Ostankova Yu.V., Nogoybaeva K.A., Semenov A.V., Totolian A.A. On molecular epidemiology of hepatitis D in Kyrgyzstan. *Meditsinskii akademicheskii zhurnal = Medical Academic Journal*, 2015, vol. 15, no. 2, pp. 73–78. (In Russ.)]
7. Семенов А.В. Распространенность серонегативного гепатита D среди пациентов с хроническим вирусным гепатитом В // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 2012. № 6. С. 106–109. [Semenov A.V. Prevalence of seronegative hepatitis D among patients with chronic viral hepatitis B. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii = Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*, 2012, no. 6, pp. 106–109. (In Russ.)]
8. Avazova D., Kurbanov F., Tanaka Y., Sugiyama M., Radchenko I., Ruziev D., Musabaev E., Mizokami M. Hepatitis B virus transmission pattern and vaccination efficiency in Uzbekistan. *J. Med. Virol.*, 2008, vol. 80, no. 2, pp. 217–224. doi: 10.1002/jmv.21035
9. Bissinger A.L., Fehrl C., Werner C.R., Lauer U.M., Malek N.P., Berg C.P. Epidemiology and genotyping of patients with chronic hepatitis B: genotype shifting observed in patients from Central Europe. *Pol. J. Microbiol.*, 2015, vol. 64, no. 1, pp. 15–21.
10. 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, no. 10, pp. 2318–2329. doi: 10.1099/vir.0.055459-0
11. Casey J.L., Brown T.L., Colan E.J., Wignall F.S., Gerin J.L. A genotype of hepatitis D virus that occurs in northern South America. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1993, vol. 90, no. 19, pp. 9016–9020.
12. Chien R.N., Chiu K.W., Chu C.M., Liaw Y.F. Acute hepatitis in HBsAg carriers: comparisons among clinical features due to HDV superinfection and other etiologies. *Chinese J. Gastroenterol.*, 1991, vol. 8, pp. 8–12. doi: 10.1016/S0168-8278(02)00419-1
13. Chomczynski P., Sacchi N. The single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction: twenty-something years on. *Nat. Protoc.*, 2006, vol. 1, no. 2, pp. 581–585. doi:10.1038/nprot.2006.83
14. Erhardt A., Blondin D., Hauck K., Sagir A., Kohnle T., Heintges T., Haussinger D. Response to interferon alfa is hepatitis B virus genotype dependent: genotype A is more sensitive to interferon than genotype D. *Gut*, 2005, vol. 54, pp. 1009–1013. doi: 10.1136/gut.2004.060327
15. Fattovich G., Giustina G., Christensen E., Pantalena M., Zagni I., Realdi G., Schalm S.W. Influence of hepatitis delta virus infection on morbidity and mortality in compensated cirrhosis type B. The European concerted action on viral hepatitis (Eurohep). *Gut*, 2000, vol. 46, no. 3, pp. 420–426. doi: 10.1136/gut.46.3.420
16. Fouad R., Abdo M., Gamal E.H., Sabry D., Atef M., Ahmed R., Zayed N. Influence of delta virus infection on the virologic status in Egyptian patients with chronic hepatitis B virus genotype D. *J. Med. Virol.*, 2016, vol. 88, no. 5, pp. 837–842. doi: 10.1002/jmv.24412
17. François-Souquière S., Makuwa M., Bisvigou U., Kazanji M. Epidemiological and molecular features of hepatitis B and hepatitis delta virus transmission in a remote rural community in central Africa. *Infect. Genet. Evol.*, 2015, vol. 39, pp. 12–21. doi: 10.1016/j.meegid.2015.12.021
18. Gheorghe L., Csiki I.E., Iacob S., Gheorghe C., Trifan A., Grigorescu M., Motoc A., Suceveanu A., Curescu M., Caruntu F., Sporea I., Brisc C., Rogoveanu I., Cerban R., Tugui L., Alexandrescu A. Hepatitis Delta virus infection in Romania: prevalence and risk factors. *J. Gastrointest. Liver Dis.*, 2015, vol. 24, no. 4, pp. 413–421. doi: 10.15403/jgld.2014.1121.244.dtv
19. Higgins D.G., Bleasby A.J., Fuchs R. CLUSTAL V: improved software for multiple sequence alignment. *Comput. Appl. Biosci.*, 1992, vol. 8, no. 2, pp. 189–191.
20. Kato H., Ruzibakiev R., Yuldasheva N., Hegay T., Kurbanov F., Achundjanov B., Tuichiev L., Usuda S., Ueda R., Mizokami M. Hepatitis B virus genotypes in Uzbekistan and validity of two different systems for genotyping. *J. Med. Virol.*, 2002, vol. 67, no. 4, pp. 477–483. doi: 10.1002/jmv.10126
21. Kawakami J., Kumar P.K., Suh Y.A., Nishikawa F., Kawakami K., Taira K., Ohtsuka E., Nishikawa S. Identification of important bases in a single-stranded region (SSrC) of the hepatitis delta (delta) virus ribozyme. *Eur. J. Biochem.*, 1993, vol. 217, no. 1, pp. 29–36. doi: 10.1111/j.1432-1033.1993.tb18214.x
22. Khan A., Kurbanov F., Tanaka Y., Elkady A., Sugiyama M., Dustov A., Mizokami M. Epidemiological and clinical evaluation of hepatitis B, hepatitis C, and delta hepatitis viruses in Tajikistan. *J. Med. Virol.*, 2008, vol. 80, no. 2, pp. 268–276. doi: 10.1002/jmv.21057

23. Khedive A., Saneji-Moghaddam I., Alavian S.M., Saberfar E., Norouzi M., Judaki M., Ghamari S., Jazayeri S.M. 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, vol. 16, no. 7, pp. 385–389. doi: 10.13167/AIM.005
24. Mokdad A.A., Lopez A.D., Shahrzad S., Lozano R., Mokdad A.H., Stanaway J., Murray C.J., Naghavi M. Liver cirrhosis mortality in 187 countries between 1980 and 2010: a systematic analysis. *BMC Med.*, 2014, vol. 12, e:145. doi: 10.1186/s12916-014-0145-y.
25. Ozaras R., Inanc B.I., Yemisen M., Tabak F. Epidemiology of HBV subgenotypes D. *Clin. Res. Hepatol. Gastroenterol.*, 2015, vol. 39, no. 1, pp. 28–37. doi: 10.1016/j.clinre.2014.06.005
26. Romeo R., Foglieni B., Casazza G., Spreafico M., Colombo M., Prati D. High serum levels of HDV RNA are predictors of cirrhosis and liver cancer in patients with chronic hepatitis delta. *PLoS One*, 2014, vol. 9, no. 3, e92062. doi: 10.1371/journal.pone.0092062
27. Romeo R., Perbellini R. Hepatitis delta virus: making the point from virus isolation up to 2014. *World J. Hepatol.*, 2015, vol. 7, no. 22, pp. 2389–2395. doi: 10.4254/wjh.v7.i22.2389
28. Saitou N., Nei M. The neighbour-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Mol. Biol. Evol.*, 1987, vol. 4, no. 4, pp. 406–425.
29. Sambrook J., Fritsch E.F., Maniatis T. Molecular cloning: a laboratory manual. 2<sup>nd</sup> ed. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989, 2230 p.
30. Stanojević B., Osioy C., Schaefer S., Bojović K., Blagojević J., Nešić M., Yamashita S., Stamenković G. Molecular characterization and phylogenetic analysis of full-genome HBV subgenotype D3 sequences from Serbia. *Infect. Genet. Evol.*, 2011, vol. 11, no. 6, pp. 1475–1480. doi: 10.1016/j.meegid.2011.05.004
31. 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. *J. Gen. Virol.*, 2008, vol. 89, no. 8, pp. 1829–1839. doi: 10.1099/vir.0.83660-0
32. Yuen M.F., Lai C.L. Hepatitis B virus genotypes: natural history and implications for treatment. *Expert Rev. Gastroenterol. Hepatol.*, 2007, vol. 1, no. 2, pp. 321–328. doi: 10.1586/17474124.1.2.321
33. Zabransky T., Mravcic V., Talu A., Jasaitis E. Post-Soviet Central Asia: a summary of the drug situation. *Int. J. Drug. Policy*, 2014, vol. 25, no. 6, pp. 1186–1194. doi: 10.1016/j.drugpo.2014.05.004
34. Zehender G., Shkjezi R., Ebranati E., Gabanelli E., Abazaj Z., Tanzi E., Kraja D., Bino S., Ciccozzi M., Galli M. Reconstruction of the epidemic history of hepatitis B virus genotype D in Albania. *Infect. Genet. Evol.*, 2012, vol. 12, no. 2, pp. 291–298. doi: 10.1016/j.meegid.2011.11.009

**Авторы:**

**Семенов А.В.**, к.б.н., зав. лабораторией вирусологии и иммунологии ВИЧ-инфекции ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера; доцент кафедры иммунологии ГБОУ ВПО Первый Санкт-Петербургский Государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова МЗ РФ; доцент кафедры клинической лабораторной диагностики ГБОУ ВПО Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова МЗ РФ, Санкт-Петербург, Россия;

**Останкова Ю.В.**, научный сотрудник лаборатории молекулярной иммунологии и сероэпидемиологии ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия;

**Ногойбаева К.А.**, к.м.н., доцент кафедры инфекционных болезней, дерматовенерологии, ВИЧ/СПИД Киргизского государственного медицинского института переподготовки и повышения квалификации, Бишкек, Кыргызская Республика;

**Касымбекова К.Т.**, д.м.н., зав. кафедрой эпидемиологии Кыргызского государственного медицинского института переподготовки и повышения квалификации, Бишкек, Кыргызская Республика;

**Лаврентьева И.Н.**, д.м.н., зав. лабораторией детских вирусных инфекций ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера, Санкт-Петербург, Россия;

**Тобокалова С.Т.**, д.м.н., профессор, зав. кафедрой инфекционных болезней, дерматовенерологии, ВИЧ/СПИД Киргизского государственного медицинского института переподготовки и повышения квалификации, Бишкек, Кыргызская Республика;

**Тотолан А.А.**, член-корреспондент РАН, д.м.н., профессор, зав. лабораторией молекулярной иммунологии и сероэпидемиологии, ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия; зав. кафедрой иммунологии ГБОУ ВПО Первый Санкт-Петербургский Государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова МЗ РФ, Санкт-Петербург, Россия.

**Authors:**

**Semenov A.V.**, PhD (Biology), Head of the Laboratory of Virology and Immunology HIV, St. Petersburg Pasteur Institute; Associate Professor, Pavlov First St. Petersburg State Medical University; Associate Professor, Department of Clinical Laboratory Diagnostics, North-West State Medical University named after I.I. Mechnikov, St. Petersburg, Russian Federation;

**Ostankova Ju.V.**, Researcher, Laboratory of Molecular Immunology and Seroepidemiology, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation;

**Nogoybaeva K.A.**, PhD (Medicine), Associate Professor, Department of Infectious Diseases, Dermatology, HIV/AIDS, Kyrgyz State Medical Institute of Retraining and Skills, Bishkek, Kyrgyz Republic;

**Kasymbekova K.T.**, PhD, MD (Medicine), Professor, Head of Centre of Molecular-Genetic and Microbiological Investigations, Kyrgyz State Medical Institute of Retraining and Skills, Bishkek, Kyrgyz Republic;

**Lavrentieva I.N.**, PhD, MD (Medicine), Head of the Laboratory of Childhood Virus Infection, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation;

**Tobokalova S.T.**, PhD, MD (Medicine), Professor, Head of the Department of Infectious Diseases, Dermatology, HIV/AIDS, Kyrgyz State Medical Institute of Retraining and Skills, Bishkek, Kyrgyz Republic;

**Totolian Areg A.**, Corresponding Member of RAS, PhD, MD (Medicine), Professor, Head of the Laboratory of Molecular Immunology and Seroepidemiology, St. Petersburg Pasteur Institute; Head of the Department of Immunology, Pavlov First St. Petersburg State Medical University, St. Petersburg, Russian Federation.