

DOI: 10.21055/0370-1069-2020-1-124-132

УДК 616.36-002(575.2)

Ю.В. Останкова¹, К.А. Ногойбаева^{4,5}, Е.Б. Зуева¹, К.Т. Касымбекова⁴, С.Т. Тобокалова⁴,
А.В. Семенов^{1,2,3}**ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ И ХАРАКТЕРИСТИКА ПОЛНОРАЗМЕРНЫХ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ ГЕНОМА ВИРУСА ГЕПАТИТА ДЕЛЬТА, ВЫДЕЛЕННЫХ У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ ВИРУСНЫМ ГЕПАТИТОМ В/D В КЫРГЫЗСКОЙ РЕСПУБЛИКЕ**

¹ФБУН «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Пастера», Санкт-Петербург, Российская Федерация; ²ГБОУ ВПО «Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» Минздрава РФ, Санкт-Петербург, Российская Федерация; ³ГБОУ ВПО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова» Минздрава РФ, Санкт-Петербург, Российская Федерация; ⁴Кыргызский государственный медицинский институт переподготовки и повышения квалификации им. С.Б. Даниярова, Бишкек, Кыргызская Республика; ⁵Кыргызская государственная медицинская академия им. И.К. Ахунбаева, Бишкек, Кыргызская Республика

Цель работы – изучение молекулярно-генетической структуры изолятов вируса гепатита D, циркулирующих в регионе с высокой распространенностью суперинфекции вирусного гепатита (ВГ) В+ВГD. **Материалы и методы.** Материалом исследования послужили 64 образца сыворотки крови, полученные от жителей Кыргызской Республики, больных хроническим вирусным гепатитом В+D. Проводили секвенирование полных геномов вируса гепатита D с последующим филогенетическим анализом. **Результаты и обсуждение.** На основании филогенетического анализа нуклеотидных последовательностей 64 образцов ВГD показано, что в обследованной группе преобладает вирус генотипа 1 (96,9 %), по сравнению с генотипом 2 (3,1 %). Полученные нуклеотидные последовательности полных геномов изолятов вируса гепатита Дельта депонированы в международную базу данных GenBank под номерами MN984407–MN984470. При оценке дивергенции исследуемых образцов генотипа 1 максимальное генетическое расстояние составило 12,49 %, а минимальное – 7,41 %, при этом, в пределах отдельных кластеров генетическое расстояние составляло от 2,6 до 8,5 %. Среди последовательностей, представленных в базе данных GenBank, наибольшее сходство с обнаруженными нами образцами ВГD-2 Kyr41 и Kyr43 (нуклеотидная идентичность 92,31 и 89,57 % соответственно) показано для вируса, описанного ранее в Якутии (AJ309880). Для исследования генетических взаимоотношений между анализируемыми вирусными штаммами генотипа 1 изучили предсказанную аминокислотную последовательность (111–214). Хотя профилактические меры против гепатита В, включая вакцинацию, привели к снижению распространенности гепатита D, не существует эффективного способа предотвращения этой инфекции у носителей ВГВ в эндемичных районах. Молекулярно-генетическая характеристика и филогенетический анализ последовательностей ВГD, представленные в настоящем исследовании, будут способствовать идентификации путей передачи патогена для контроля и/или предотвращения распространения инфекции.

Ключевые слова: вирус гепатита D, вирус гепатита В, сочетанная инфекция, молекулярная эпидемиология, секвенирование, Кыргызская Республика.

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

Для цитирования: Останкова Ю.В., Ногойбаева К.А., Зуева Е.Б., Касымбекова К.Т., Тобокалова С.Т., Семенов А.В. Филогенетический анализ и характеристика полноразмерных последовательностей генома вируса гепатита дельта, выделенных у больных хроническим вирусным гепатитом В/D в Кыргызской Республике. *Проблемы особо опасных инфекций.* 2020; 1:124–132. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-1-124-132

Yu.V. Ostankova¹, K.A. Nogoybaeva^{4,5}, E.B. Zueva¹, K.T. Kasymbekova⁴, S.T. Tobokalova⁴,
A.V. Semenov^{1,2,3}**Characterization of the Full-Length Genome Sequences and Phylogenetic Analysis of HDV Strains Isolated from Patients with Chronic HBV and HDV Infection in Kyrgyz Republic**

¹Saint-Petersburg Pasteur Institute, Saint Petersburg, Russian Federation;

²Saint-Petersburg State Medical University n.a. acad. I.P. Pavlov, Saint Petersburg, Russian Federation;

³North-Western State Medical University n.a. I.I. Mechnikov, Saint Petersburg, Russian Federation;

⁴Kyrgyz State Medical Institute for Advanced Training and Retraining n.a. S.B. Daniyarova, Bishkek, Kyrgyz Republic;

⁵Kyrgyz State Medical Academy n.a. I.K. Akhunbaeva, Bishkek, Kyrgyz Republic.

Abstract. Objective. The purpose of our work was molecular genetic characterization of the hepatitis D virus isolates, circulating in the region with high prevalence of HBV + HDV super-infection. **Materials and methods.** The study material was 64 blood serum samples obtained from Kyrgyz Republic residents - patients with chronic viral hepatitis B+D. The hepatitis D virus complete genomes were sequenced, followed by phylogenetic analysis. **Results and discussion.** Based on the phylogenetic analysis of 64 HDV samples, it was shown that HDV genotype 1 (96.9 %) predominates in the examined group compared with HDV genotype 2 (3.1 %). Sequences were submitted to GenBank under access No MN984407 through MN984470. When assessing the genetic variability over the examined HDV genotype 1 samples, the maximum genetic distance was 12.49 %, and the minimum – 7.41 %. Within individual clusters, the genetic distance averaged from 2.6 % to 8.5 %. Among the sequences in GenBank, the closest resemblance to the HDV-2 Kyr41 and Kyr43 samples (nucleotide identity was 92.31 % and 89.57 %, respectively) was shown for the virus described earlier in Yakutia (AJ309880). To study the genetic relationships between the analyzed HDV genotype 1 strains in comparison with the HDV reference sequences, the predicted amino acid sequence was studied (111–214). Although hepatitis B

preventive measures, including vaccination, have reduced the hepatitis D incidence, there is no effective way to prevent HDV infection in HBV carriers in endemic areas. The HDV sequence molecular-genetic characterization in this study, as well as the viral genomic sequence phylogenetic analysis, will help identify pathogen transmission pathways to control and / or prevent the spread of infection.

Keywords: Hepatitis D virus, hepatitis delta virus, hepatitis B virus, co-infection, molecular epidemiology, sequencing, Kyrgyzstan.

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

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

Citation: Ostankova Yu.V., Nogoybaeva K.A., Zueva E.B., Kasymbekova K.T., Tobokalova S.T., Semenov A.V. Characterization of the Full-Length Genome Sequences and Phylogenetic Analysis of HDV Strains Isolated from Patients with Chronic HBV and HDV Infection in Kyrgyz Republic. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2020; 1:124–132. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2020-1-124-132

Received 03.02.20. Revised 15.02.20. Accepted 12.03.20.

Вирус гепатита D (ВГД или дельта-вирус) является единственным видом семейства *Deltaviridae* рода *Deltavirus*. Вирусный геном данного возбудителя представляет собой кольцевую одноцепочечную молекулу РНК отрицательной полярности протяженностью около 1700 нуклеотидов с шестью открытыми рамками считывания, но только с одной транскрипция приводит к получению двух изоформ дельта-антигена (HDAg) [1]. Транскрибирующаяся молекула мРНК размером 800 нуклеотидов кодирует белок размером 24 кДа, состоящий из 195 аминокислот – малый дельта-антиген (S-HDAg). Во время транскрипции механизм редактирования, катализируемый клеточной аденозин-деаминазой 1 (ADAR 1), преобразует стоп-кодон UAG в триптофановый кодон UGG, что увеличивает протяженность открытой рамки считывания и приводит к образованию большого дельта-антигена (L-HDAg) 27 кДа (214 аминокислот) [1]. Малый и большой дельта-антигены не проявляют ферментативной активности, их посттрансляционные модификации, включающие фосфорилирование и изопренилирование соответственно, придают им специфические регуляторные свойства. S-HDAg важен для инициации репликации вирусного генома, в то время как L-HDAg служит основным ингибитором репликации и необходим для сборки новых частиц вириона [2].

Особенностью возбудителя гепатита D является его неспособность к самостоятельному существованию – его жизненный цикл зависит от вируса гепатита В (ВГВ). Кольцевые молекулы РНК ВГД обладают высокой самокомплементарностью и складываются в неразветвленные палочковидные структуры, связывающиеся с HDAg с образованием комплексов рибонуклеопротеинов. На более поздних стадиях образования вирионов дельта-вируса ВГВ обеспечивает поверхностный антиген (HBsAg), используемый в качестве белка оболочки капсидов, способствующего проникновению в клетки печени [3]. После чего комплекс рибонуклеопротеинов транспортируется в ядро, где вирусная репликация инициируется клеточными РНК-полимеразами. ВГД не кодирует свою собственную репликазу или РНК-зависимую РНК-полимеразу, используя для этого РНК-полимеразу II клетки-хозяина. Поскольку геномная РНК ВГД имеет отрицательную полярность, во время репликации создаются три различные формы РНК: коль-

цевая геномная отрицательной полярности, кольцевая комплементарная антигеномная положительной полярности и линейная полиаденилированная антигеномная информационная, включающая открытую рамку считывания для HDAg. В этой удлиненной последовательности сайт изопренилирования, соответствующий С-концевым 19 аминокислотам L-HDAg, подвергается фарнезилированию с помощью фарнезилтрансферазы хозяина, что позволяет экспортировать L-HDAg в цитоплазму, где взаимодействует с HBsAg в форме клатрин-опосредованных везикул в эндоплазматической сети, то есть новый комплекс рибонуклеопротеинов упаковывается в белки оболочки ВГВ, а созревшие вирионы впоследствии секретируются инфицированными клетками [4].

По данным ВОЗ, более 350 млн человек во всем мире больны хроническим вирусным гепатитом В (ХВГВ). Первоначально считалось, что по меньшей мере 5 % из них, то есть от 15 до 20 млн человек, инфицированы одновременно ВГД, однако, согласно недавнему мета-анализу, инфицированы 62–72 млн человек [5]. Таким образом, вирус гепатита D присутствует во всем мире, распределение его в разных географических регионах неравномерно и параллельно распространению ВГВ. Важной тенденцией является глобальное снижение распространенности данной инфекции в мире, что справедливо как для острых, так и для хронических форм заболевания, и связано с введением массовой иммунизации против гепатита В новорожденных, а также пожилых людей. Таким образом, значительное снижение распространенности гепатита D в странах Европы с 70-х и 80-х годов прошлого столетия, когда впервые было сообщено о высокой встречаемости вируса, является результатом глобальной вакцинации против ВГВ, улучшения стратегий профилактики и социально-экономических условий [6]. Тем не менее инфицирование ВГД по-прежнему является серьезной проблемой здравоохранения, особенно в странах, где вакцинация против ВГВ не проводится, а также в регионах, где инфекция является эндемичной. Например, на Ближнем Востоке, в некоторых странах Африки, Южной Америки, Восточной Европе, Средиземноморье, Азии и части Российской Федерации. Распространенность ВГД в разных азиатских странах является переменной и колеблется: 3–10 % – в Индии, 2–20 % – в Иране, 18 % – в

Афганистане и 3–8 % – в Саудовской Аравии. В Пакистане распространенность инфекции у лиц с положительным HBsAg составляет 16,6 %. В Монголии инфицированы около 60 % HBsAg-положительных пациентов. По данным исследований, проведенных в шести регионах Российской Федерации, ряд территорий страны характеризуется высокой циркуляцией ВГД (Республика Тыва – 46,5 %, Республика Саха (Якутия) – 12,5 %). Среди ВГВ-инфицированных лиц в Таджикистане специфические антитела к вирусу гепатита D выявлены в 23,5 % случаев. При оценке распространенности вируса в Узбекистане встречаемость инфекции среди HBsAg-положительных лиц в 2016, 2017 и 2018 гг. составила 41, 45 и 49,1 % соответственно, а среди носителей HBsAg с циррозом печени антитела к вирусу выявлены в 76,5, 80,5 и 84 % случаев [7].

По всей видимости, сохранение уровня распространенности ВГД в некоторых регионах Европы может быть связано с миграцией из развивающихся стран, где находятся очаги инфекции, что подтверждается высоким уровнем носительства вируса среди некоренного населения в разных странах [8].

Возбудитель гепатита D передается по тем же путям, что и ВГВ, включая половой контакт или парентеральную передачу при внутривенных инъекциях, хирургических процедурах и переливании крови. Заражение ВГВ+ВГД может происходить двумя различными способами. При одновременном инфицировании ВГВ и ВГД говорят о коинфекции патогенов, разрешающейся в большинстве случаев (95–98 %) как острая инфекция с минимальным повреждением печени и полным клиренсом вирусов. В оставшихся случаях коинфекция ВГВ+ВГД может вызывать тяжелый молниеносный гепатит, что приводит к массивному некрозу гепатоцитов, печеночной недостаточности и смерти до 80 % пациентов, если они не могут пройти трансплантацию печени. При инфицировании ВГД пациента, зараженного ВГВ ранее, развивается суперинфекция. Приблизительно у 80–90 % пациентов суперинфекция ВГВ+ВГД приводит к прогрессированию от острого до хронического заболевания и характеризуется высоким риском развития тяжелых клинических проявлений, таких как молниеносный гепатит, декомпенсация, цирроз печени и гепатоцеллюлярная карцинома. При суперинфекции среди больных с циррозом печени риск развития гепатоцеллюлярной карциномы, декомпенсации и смертности увеличивался в 3,2 раза (от 1,0 до 10), 2,2 раза (от 0,8 до 5,7) и 2 раза (от 0,7 до 5,7) соответственно у анти-ВГД-положительных пациентов по сравнению с анти-ВГД-негативными [9]. При изучении государственной отчетной формы № 12 Республики Кыргызстан за период с 2010 по 2017 год проанализированы 133 истории болезни больных ХВГВ и 130 – ХВГВ+D. Показано более тяжелое течение ХВГВ+D, что свидетельствует о необходимости обязательного обследования всех пациентов при первичном выявлении HBsAg на антитела

к ВГД для раннего обнаружения и своевременной организации вторичной и третичной профилактики в стране [10].

Существуют противоречивые сообщения о роли каждого вируса в патогенности суперинфекции ВГВ+ВГД. Поскольку из-за ограниченной способности кодировать белки ВГД использует клеточные белки хозяина для осуществления процессов собственного жизненного цикла, взаимодействие между хозяином и патогеном изменяет клеточный протеом, повышает экспрессию провоспалительных, ростовых и антиапоптотических факторов, что объясняет тяжелое некровоспаление и раннее развитие гепатоцеллюлярной карциномы у пациентов с ВГД [2]. То есть, с инфекцией ВГД связано иммуноопосредованное повреждение печени, поскольку вирус реплицируется только в гепатоцитах и активность заболевания печени в основном обусловлена этим вирусом [11]. Другие исследователи считают, что ВГВ, независимо от уровня вирусной нагрузки, проявляется в агрессивной природе и прогрессировании заболевания.

Сложность лечения хронической инфекции ВГД связана с отсутствием ферментативной функции, которая могла бы стать мишенью терапии. В отличие от нескольких эффективных терапевтических вариантов, доступных для моноинфекции ВГВ, для одновременной инфекции ВГВ+ВГД единственным общепризнанным методом лечения остается высокая доза пегилированного интерферона α , что эффективно лишь в 25–30 % случаев [12].

Филогенетический анализ, основанный на данных полноразмерных последовательностей генома ВГД, позволил определить восемь генотипов вируса, расхождение нуклеотидных последовательностей которых составляет до 16 % в пределах генотипа и 20–36 % между генотипами [13]. В последнее время обширные филогенетические реконструкции показали, что генетическая изменчивость ВГД намного сложнее, чем считалось ранее. Например, последовательности, ранее классифицируемые как генотип 1b, теперь следует рассматривать как принадлежащие к генотипу 4, а африканские последовательности вируса разделяют на четыре дополнительных генотипа 5–8 [13]. Генотипы ВГД имеют четкое географическое распределение: генотип 2, ранее известный как 1a, распространен в Японии, Тайване, на Дальнем Востоке России, генотип 3 – в северной части Южной Америки, генотип 4 – в Тайване и Японии, генотипы 5–8 – в странах Африки и в Бразилии. Исключением является ВГД генотипа 1, распространенный по всему миру и доминирующий в Европейском и Евро-Азиатском регионе [14].

Для ВГД генотипа 1 показан широкий спектр проявления патогенности, тогда как генотип 2 ассоциирован преимущественно с легким течением заболевания. Генотип 3 связан с тяжелыми вспышками гепатита. Однако не представляется возможным только по данным имеющейся в настоящее время ли-

тературы обрисовать конкретные генетические варианты вируса, связанные с тяжестью, течением и исходом заболевания, поскольку различные генотипы распространены в разных регионах мира с преобладанием генотипа 1, при этом ни для одного генотипа не показана уверенная ассоциация с более тяжелым исходом заболевания [15, 16].

Определение генотипов ВГД в настоящее время применяется только в научных исследованиях, однако этот этап изучения вируса очень важен для определения путей его распространения, а также лучшего понимания эпидемиологических особенностей заболевания.

Впрочем, следует отметить, что для большей части географических регионов мира, в том числе для стран Средней Азии, ограниченно представлены молекулярно-генетические исследования, позволяющие оценить эпидемиологическую ситуацию.

Насколько нам известно, несмотря на высокую распространенность ВГД в странах Средней Азии в целом и в Кыргызской Республике в частности, работы, включающие секвенирование нуклеотидных последовательностей фрагмента генома вируса из этого географического региона и дальнейший филогенетический анализ, крайне редки. Одной из них являлось наше исследование особенностей генетической структуры вируса в Кыргызстане на основе анализа последовательности фрагмента кДНК гипервариабельного участка гена, кодирующего дельта-антиген, длиной 397 нт [17]. Хотя для определения генотипа вируса этого достаточно, оценить кластеризацию изолятов возможно только при филогенетическом анализе полных геномов вируса.

Целью нашей работы стало изучение молекулярно-генетической структуры изолятов ВГД, циркулирующих в Кыргызской Республике – регионе с высокой распространенностью суперинфекции ВГВ+ВГД.

Материалы и методы

В работе использованы образцы плазмы крови от 64 больных с верифицированным вирусным гепатитом В+D, полученные от коренных жителей Кыргызстана.

Выделение РНК проводили с использованием реагента Trizol (Invitrogen, США). Обратную транскрипцию проводили на неспецифичных праймерах с использованием коммерческого набора реагентов «Реверта-L» (ФБУН ЦНИИЭ, Россия) для синтеза первой цепи кДНК согласно инструкции производителя. Реакцию останавливали нагреванием в течение 5 мин при 70 °С. Далее осуществляли амплификацию с использованием пары праймеров, перекрывающих полный геном вируса. При низкой вирусной нагрузке ВГД осуществляли второй этап амплификации с использованием пары праймеров, сдвинутых по цепи относительно первой пары праймеров, а также перекрывающих полный геном вируса.

Для ПЦР в общем виде использовали следующий состав амплификационной смеси: 3–30 пМ каждого праймера, 0,8–1,0 мМ каждого дезоксирибонуклеотида, 5,8 мМ MgCl₂, 1 ед. рекомбинантной Taq ДНК-полимеразы (Fermentas, США), буфер для Taq ДНК-полимеразы, 1 мкг матрицы, вода без нуклеаз до конечного объема 30 мкл. Амплификацию в общем виде проводили при следующих условиях: после денатурации при 95 °С в течение 15 мин устанавливали 30–40 циклов амплификации в режиме: 95 °С – 20 с, 52–58 °С – 20–30 с, 72 °С – 120 с; затем финальная элонгация при 72 °С – 5 мин. Качество ПЦР определяли визуально методом электрофореза в 2 % агарозном геле (120 В, 40 мин, 1хTBE), окрашенном бромистым этидием.

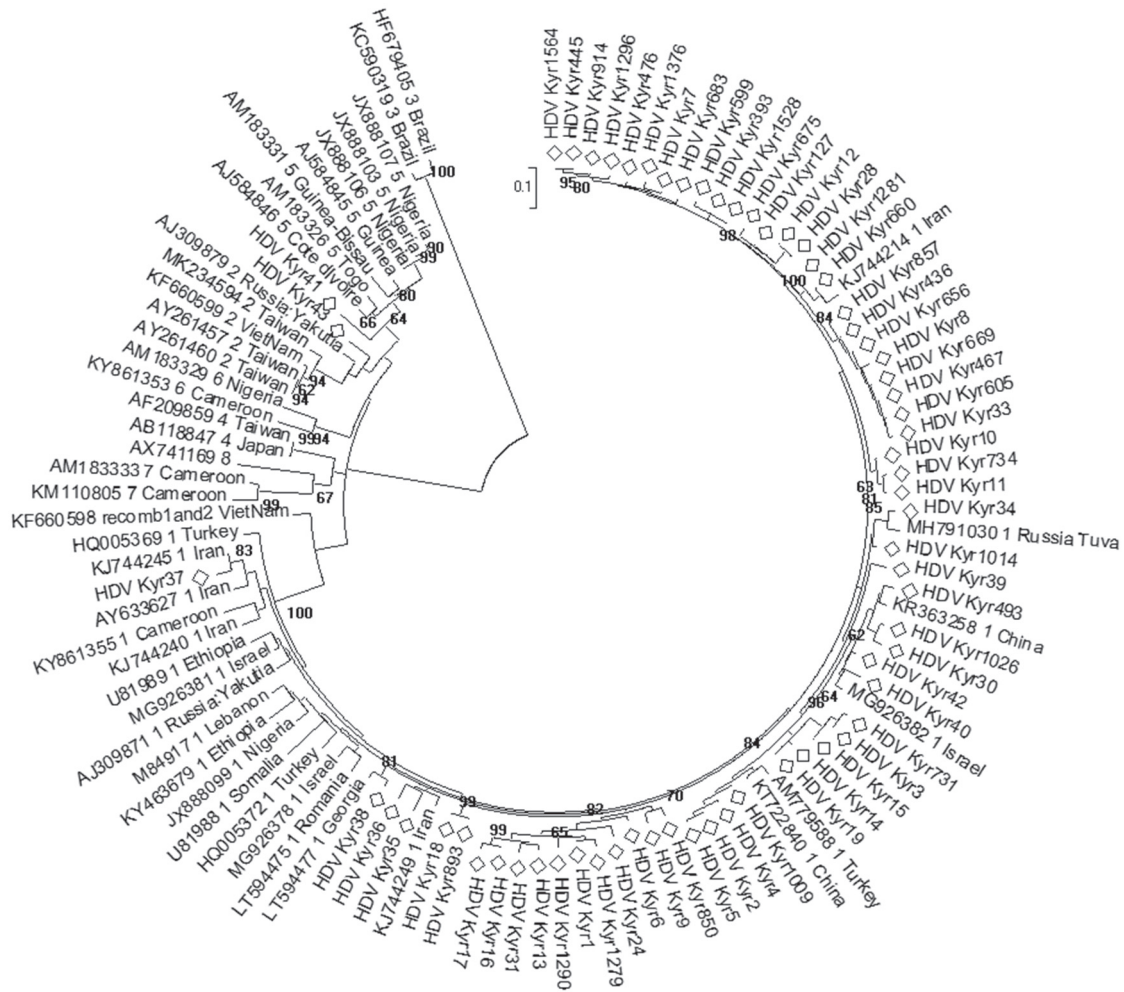
Для последующего исследования использовали восемь специфичных олигонуклеотидных праймеров. Секвенирующую реакцию проводили согласно инструкции к набору реагентов ABI PRISM BigDye Terminator v3.1. (Applied Biosystems, США) в трех повторях на прямых и обратных праймерах. Пробы исследовали с помощью генетического анализатора ABI Prism 3500 (Applied Biosystems, США).

Типирование ВГД осуществляли на основе анализа полных нуклеотидных последовательностей геномов вируса. Первичный анализ проводили с помощью программы NCBI Blast ([<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>]) в сравнении с нуклеотидными последовательностями, представленными в международной базе данных GenBank ([<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>]). Выравнивание нуклеотидных последовательностей проводили в программе MEGA v.7.0, используя алгоритм ClustalW [18]. Для последующего филогенетического анализа применяли метод Maximum Likelihood, позволяющий провести оптимизацию деревьев в соответствии с моделью General Time Reversible и Gamma Distributed (GTR+G), при оценке достоверности филогенетических связей использовали многократную генерацию выборок методом Монте-Карло (bootstrap) для 1000 независимых построений каждого филогенетического древа.

Результаты и обсуждение

По имеющимся данным, представленные в группе пациенты не вакцинировались против ВГВ и, вероятнее всего, были инфицированы горизонтальным путем. При разделении исследованной нами группы по вирусной нагрузке, корреляции между уровнем РНК ВГД, состоянием печени больных и генотипами вируса не выявлено.

После проведенных исследований во всех 64 образцах выявлена РНК и определены нуклеотидные последовательности полного генома вируса гепатита Дельта. Филогенетические отношения между исследованными образцами ВГД и референсными штаммами из международной базы данных GenBank представлены на рисунке.



Филогенетический анализ нуклеотидных последовательностей полных геномов ВГД, выделенных от пациентов с хронической инфекцией, вызванной ВГВ+ВГД, проживающих на территории Кыргызской Республики. Референсные последовательности обозначены кодами GenBank с указанием генотипа и региона происхождения образца. Ромбами обозначены образцы, исследованные в настоящей работе. Даны значения bootstrap ≥ 60

Phylogenetic analysis of nucleotide sequences of HDV whole genomes isolated from patients with chronic infection caused by HBV + HDV, residing in the territory of Kyrgyz Republic. Reference sequences are labeled by GenBank codes with indication of genotype and the region of origination of the sample. Diamonds mark the samples investigated within the frames of this study. The bootstrap values ≥ 60 are presented

Нуклеотидные последовательности полных геномов изолятов ВГД, полученных в результате данной работы, депонированы в международную базу данных GenBank под номерами MN984407–MN984470. Также показано, что в обследованной группе вирус гепатита Дельта генотипа 1 представлен в 96,9 % случаев, генотипа 2 – в 3,1 %.

Образцы ВГД генотипа 1 образовали на филогенетическом дереве множественные кластеры с различной поддержкой при начальной загрузке. Для оценки генетических связей изолятов, полученных от больных в Киргизии, мы провели анализ в сравнении с максимально идентичными каждому нашему образцу нуклеотидными последовательностями полных геномов вируса, представленными в базе данных GenBank. В ходе анализа показано, что, несмотря на общее географическое происхождение исследуемых нами образцов, один кластер состоял из штаммов, схожих с ранее опубликованными последователь-

ностями ВГД из разных регионов мира, в то время как пять кластеров включали преимущественно азиатские референсные штаммы, в том числе из Ирана, Турции, Монголии, Китая и Пакистана. При оценке дивергенции у вируса генотипа 1 максимальное генетическое расстояние составило 12,49 %, а минимальное – 7,41 %. В пределах отдельных кластеров генетическое расстояние составляло, в среднем, от 2,6 до 8,5 %, а также наблюдалась группировка изолятов с более высокой начальной загрузкой, чем в основании кластера, что указывает на существование потенциальных подгрупп.

Для дополнительного исследования генетических взаимоотношений между анализируемыми штаммами ВГД генотипа 1 в сравнении с референсными последовательностями изучили предсказанную аминокислотную последовательность (111–214), транслированную фрагментом генома протяженностью 279 нуклеотидов, соответствующим

Предсказанные аминокислоты 62 изученных штаммов ВГД генотипа 1 в значимых положениях последовательности 111-214, РНК-связывающем домене 79-107 и сайтах фосфорилирования 2, 123, 177

Predicted amino acids of 62 studied strains of HDV genotype 1 in relevant positions of a sequence 111-214, RNA-binding domain 79-107 and phosphorylation sites 2, 123, 177

Положение Position	Наименование аминокислоты Amino acid	Выявлено из 62 изученных штаммов ВГД генотипа 1 Out of 62 studied HDV strains genotype 1, identified
2, 72, 123, 177	Лизин (K) lysine (K)	62 (100 %)
81	Валин (V) Valine (V)	40 (64,5 %)
	Изолейцин (I) Isoleucine (I)	20 (32,2 %)
	Аланин (A) Alanine (A)	1 (1,6 %)
	Глутаминовая кислота (E) Glutamine acid (E)	1 (1,6 %)
97	Лизин (K) Lysine (K)	43 (69,3 %)
	Аргинин (R) Arginine (R)	13 (20,9 %)
	Глутамин (Q) Glutamine (Q)	2 (3,2 %)
	Глутаминовая кислота (E) Glutamine acid (E)	2 (3,2 %)
	Аспарагиновая кислота (D) Asparaginic acid (D)	1 (1,6 %)
131	Лизин (K) Lysine (K)	51 (82,2 %)
	Аргинин (R) Arginine (R)	8 (12,9 %)
	Метионин (M) Methionine (M)	1 (1,6 %)
	Лейцин (L) Leucine (L)	1 (1,6 %)
	Глицин (G) Glycine (G)	1 (1,6 %)
135	Глутаминовая кислота (E) Glutamine acid (E)	60 (96,7 %)
	Аргинин (R) Arginine (R)	1 (1,6 %)
	Треонин (T) Threonine (T)	1 (1,6 %)
139	Аргинин (R) Arginine (R)	50 (80,6 %)
	Лизин (K) Lysine (K)	10 (16,1 %)
	Глутаминовая кислота (E) Glutamine acid (E)	2 (3,2 %)
142	Аргинин (R) Arginine (R)	61 (98,4 %)
	Глутаминовая кислота (E) Glutamine acid (E)	1 (1,6 %)
148	Пролин (P) Proline (P)	59 (95,2 %)
	Аргинин (R) Arginine (R)	3 (4,8 %)
149	Треонин (T) Threonine (T)	46 (74,2 %)
	Пролин (P) Proline (P)	10 (16,1 %)
	Валин (V) Valine (V)	5 (8 %)
	Глутамин (Q) Glutamine (Q)	1 (1,6 %)
202	Серин (S) Serine (S)	18 (29 %)
	Аланин (A) Alanine (A)	36 (58,1 %)
	Пролин (P) Proline (P)	7 (11,3 %)*
	Валин (V) Valine (V)	1 (1,6 %)

*штаммы, несущие в положении 202 пролин (P), в положении 203 имели остаток глутаминовой кислоты (E).

*strains, carrying proline (P) in the position 202, had a residue of glutamine acid (E) in the position 203.

последним 103 аминокислотам L-HDAg, включая сайт ацетилирования (72), РНК-связывающий домен (79–107), богатые аргинином фрагменты (137–144), клатриновый бокс-связывающий домен (199–203), сайты изопренилирования (211–214), сайты фосфорелирования (2, 123, 177), 19 С-концевых аминокислот (196–214) (таблица).

Анализ аминокислотной последовательности сайта посттрансляционного фосфорелирования в белке S-HDAg выявил серин в положениях 2, 123 и 177, отвечающих за синтез геномной РНК ВГД путем взаимодействия с клеточной РНК-полимеразой II [19]. В сайте ацетилирования остаток лизина присутствовал во всех изолятах (К-72). Требования к изменениям аминокислотной последовательности для функции связывания РНК могут быть менее строгими: обращают на себя внимание положения 81 (у большинства представлен остаток V, в меньшем количестве остаток I, по одному случаю A и E, 97 (преимущественно лизин, а также наличествуют образцы с R, Q и E), отличные аминокислотные остатки в некоторых образцах обнаруживаются в положениях 83, 86, 88–90, 93, 95, 96, 100, по одному образцу с заменами в положениях 101 и 107. В положении 131 в обследуемой группе преобладал остаток K, в восьми случаях представлен остаток R, по одному случаю – остатки M, L, G. В положении 135, лежащем в пределах области HLH, каждый из аминокислотных остатков R и T показан в одном случае, для остальных показан остаток E, а в положении 139 в начале области ARM преобладал вариант R, у десяти пациентов аминокислота K, в двух случаях – E остаток. В положении 142 области ARM аминокислота R преобладает в наших штаммах, тогда как E выявлен только в одном из наших образцов – Kyr39. В начале эпитопной области HDAg в положении 148 у трех образцов аминокислота R, однако у остальных только аминокислота P. Интересно, что сходные нетипичные замены в положении 148 показаны среди образцов в Пакистане [20]. Необычные мутации показаны в положении 149 – преобладал остаток T, P представлен в 10 случаях, V в 5 случаях, в единственном образце обнаружен остаток Q. Анализ положения 202 в высококонсервативном С-конце L-HDAg ВГД-1 позволил нам разделить образцы на группы последовательностей: одну с сериновым остатком (соответствующим кодону UCC), другую с аланином (соответствующим кодону GCC). Среди наших образцов остаток A-202 выявлен в 58,1 % случаев, а в 29 % – остаток S-202, что считается характерным для африканских штаммов генотипа 1 (в отличие от евразийских штаммов, где аланин находится в положении 202) [21]. Изоляты с сериновым остатком обнаружены в Турции, Пакистане и Восточной Европе. Среди анализируемых нами последовательностей в одном случае в положении 202 был представлен валиновый остаток V, ранее описанный в двух изолятах, обнаруженных в Японии. Особенно интересны оказались образцы с остатками P-202 (пролин)

E-203 (глутаминовая кислота), которые составляли 11,3 % от общего количества исследованных проб. Среди представленных в GenBank последовательностей ВГД P-202 обнаружен у изолята из Турции, а сочетание P-202 и E-203 – в образце из Чада. Все изученные изоляты экспрессируют область CRPQ на С-конце L-HDAg. Остатки CRPQ специфичны для генотипа 1 и используются для его дифференциации от других генотипов ВГД.

Выявление преобладания среди образцов из Кыргызской Республики ВГД генотипа 1 было ожидаемо, так как существенная доля изолятов, описанных ранее в странах Средней Азии, связаны с этим генотипом, например в Таджикистане, Пакистане, Иране и Китае. Как мы уже упоминали выше, ВГД генотипа 2 распространен в Японии, Тайване, а также в Якутии (Россия) [22]. Следует отметить, что изоляты указанного генотипа также выявляли в азиатском регионе [23]. Среди последовательностей, представленных в базе GenBank, наибольшее сходство с обнаруженными нами образцами ВГД-2 Kyr41 и Kyr43 (нуклеотидная идентичность 92,31 и 89,57 % соответственно) показано для вируса, описанного ранее в Якутии (AJ309880), что, вероятно, может подтверждать предположение авторов о происхождении ВГД 2 от общего азиатского и сибирского предка [22].

Поскольку в нашей работе представлены первые данные, описывающие полные геномы ВГД в Киргизии, мы можем только предполагать циркуляцию вируса генотипа 2 в данном регионе, что не исключает возможность занесения этого генетического варианта вируса на данную территорию. Оба обнаруженных образца, относящиеся к генотипу 2, имеют специфичные для этого генотипа остатки СТРQ на С-конце L-HDAg, однако в образце Kyr43 С-концевой фрагмент VNPA/VPPGQRLPLECTPQ частично изменен: VSPEPRPPRLPLECTPQ.

В связи с вышесказанным представляется важным предложить к рассмотрению для внедрения в комплекс исследовательских работ, посвященных ВГД, дополнительных параметров. Так, в большинстве случаев первым этапом диагностики инфекции является выявление HBsAg-положительных лиц и антител к ВГВ, затем тестирование HBsAg-положительных пациентов на наличие антител к HDAg и далее определение РНК вируса. Однако для 70–90 % пациентов показано подавление дельта-вирусом репликации ВГВ, что приводит к отсутствию в периферической крови HBsAg и к низкому/неопределяемому уровню ДНК ВГВ. Среди пациентов с суперинфекцией из Киргизии на момент обследования методом ПЦР только у 14,7 % лиц отмечалась высокая активность инфекции, вызванной ВГВ при низкой вирусной нагрузке ВГД, в то время как у 85,3 % показана высокая его репликация при очень низкой вирусной нагрузке ВГВ, причем течение болезни у этих пациентов было более тяжелым и менее благоприятным [24]. А значит, тестирование на ВГД желательно проводить

независимо от выявления или не выявления маркеров ВГВ.

Обсуждаемые выше аминокислотные замены в образцах ВГД 1 и 2 генотипов лежат в областях HDAg, включающих репликацию и упаковку РНК. Такие тенденции аминокислотных замен в критических областях вируса заслуживают дальнейшего изучения в широких масштабах с целью выяснения их значимости в жизненном цикле вируса и влиянием на течение инфекции, а также являются ли эти замены отличительной чертой ВГД, циркулирующих в указанном географическом регионе. Осуществлению этих задач могло бы способствовать создание базы данных нуклеотидных и аминокислотных последовательностей штаммов вируса гепатита Дельта, их характеристик, вкупе с анамнестическими сведениями о пациентах, данными о наличии/отсутствии аутоантител, а также определяемых уровней HBsAg и ДНК ВГВ в периферической крови больных, что в дальнейшем может играть роль при разработке и подборе методов терапии, как, например, база бактериальных и вирусных инфекций I–II групп патогенности [25].

Несмотря на то, что в настоящее время наблюдается глобальное снижение числа случаев заболевания, вызванного ВГД+ВГВ, связанное с эффективным применением в развитых странах методов профилактики и расширенной вакцинации, данное инфекционное заболевание продолжает оставаться серьезной проблемой для здравоохранения стран Средней Азии, где обстоятельства способствуют распространению ВГВ и сопутствующих патогенов.

Молекулярно-генетическая характеристика последовательностей ВГД, представленная в настоящем исследовании, как и филогенетический анализ полученных вирусных геномов, будут способствовать последующей идентификации путей передачи патогена с целью контроля и/или предотвращения распространения инфекции.

Авторы подтверждают, что от всех участников исследования получено информированное согласие.

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

Список литературы

- Casaca A., Fardilha M., da Cruz e Silva E., Cunha C. The heterogeneous ribonuclear protein C interacts with the hepatitis delta virus small antigen. *Virology*. 2011; 8:358. DOI: 10.1186/1743-422-X-8-358.
- Giersch K., Dandri M. Hepatitis B and delta virus: Advances on studies about interactions between the two viruses and the infected hepatocyte. *J. Clin. Transl. Hepatol.* 2015; 3(3):220–9. DOI: 10.14218/JCTH.2015.00018.
- Koytak E.S., Yurdaydin C., Glenn J.S. Hepatitis D. *Curr. Treat. Options Gastroenterol.* 2007; 10:456–63. DOI: 10.1007/s11938-007-0045-8.
- Ni Y., Zhang Z., Engelskircher L., Verch G., Tu T., Lempp F.A., Urban S. Generation and characterization of a stable cell line persistently replicating and secreting the human hepatitis delta virus. *Sci. Rep.* 2019; 9:10021. DOI: 10.1038/s41598-019-46493-1.
- Chen H.Y., Shen D.T., Ji D.Z., Han P.C., Zhang W.M., Ma J.F., Chen W.S., Goyal H., Pan S., Xu H.G. Prevalence and burden of hepatitis D virus infection in the global population: a systematic review and meta-analysis. *Gut*. 2018; 68:512–21. DOI: 10.1136/

gutjnl-2018-316601.

- Sagnelli E., Sagnelli C., Pisaturo M., Macera M., Coppola N. Epidemiology of acute and chronic hepatitis B and delta over the last 5 decades in Italy. *World J. Gastroenterol.* 2014; 20(24):7635–43. DOI: 10.3748/wjg.v20.i24.7635.
- Khodjaeva M., Ibadullaeva N., Khikmatullaeva A., Joldasova E., Ismoilov U., Colombo M., Caviglia G.P., Rizzetto M., Musabaev E. The medical impact of hepatitis D virus infection in Uzbekistan. *Liver Int.* 2019; 39(11):2077–81. DOI: 10.1111/liv.14243.
- Wranke A., Pinheiro Borzacov L.M., Parana R., Lobato C., Hamid S., Ceausu E., Dalekos G.N., Rizzetto M., Turcanu A., Niro G.A., Lubna F., Abbas M., Ingiliz P., Buti M., Ferenci P., Vanwolleghem T., Hayden T., Dashdorj N., Motoc A., Cornberg M., Abbas Z., Yurdaydin C., Manns M.P., Wedemeyer H., Hardtke S., Hepatitis Delta International Network. Clinical and virological heterogeneity of hepatitis delta in different regions world-wide: the Hepatitis Delta International Network (HDIN). *Liver Int.* 2018; 38(5):842–50. DOI: 10.1111/liv.13604.
- De Sousa B.C., Cunha C. Development of mathematical models for the analysis of hepatitis delta virus viral dynamics. *PLoS One*. 2010; 5(9):e12512. DOI: 10.1371/journal.pone.0012512.
- Ногойбаева К.А., Тобокалова С.Т., Бекенова Д.С., Назарбаева Ж.Н. Хронический гепатит В без и с дельта-агентом в Кыргызстане (эпидемиологическая ситуация, клинические особенности). *Инфекция и иммунитет*. 2019; 9(3–4):577–82. DOI: 10.15789/2220-7619-2019-3-4-577-582.
- Niro G.A., Smedile A. Current concept in the pathophysiology of hepatitis delta infection. *Curr. Infect. Dis. Rep.* 2012; 14:9–14. DOI: 10.1007/s11908-011-0233-5.
- Lempp F.A., Ni Y., Urban S. Hepatitis delta virus: insights into a peculiar pathogen and novel treatment options. *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.* 2016; 13:580–9. DOI: 10.1038/nrgastro.2016.126.
- Le Gal F., Gault E., Ripault M.P., Serpaggi J., Trinchet J.C., Gordien E., Dény P. Eighth major clade for hepatitis delta virus. *Emerg. Infect. Dis.* 2006; 12(9):1447–50. DOI: 10.3201/eid1209.060112.
- Wedemeyer H., Manns M.P. Epidemiology, pathogenesis and management of hepatitis D: update and challenges ahead. *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.* 2010; 7(1):31–40. DOI: 10.1038/nrgastro.2009.205.
- Hsu S.C., Syu W.J., Sheen I.J., Liu H.T., Jeng K.S., Wu J.C. Varied assembly and RNA editing efficiencies between genotypes I and II hepatitis D virus and their implications. *Hepatology*. 2002; 35(3):665–72. DOI: 10.1053/jhep.2002.31777.
- Gomes-Gouvêa M.S., Soares M.C., Bensabath G., de Carvalho-Mello I.M., Brito E.M., Souza O.S., Queiroz A.T., Carrilho F.J., Pinho J.R. Hepatitis B virus and hepatitis delta virus genotypes in outbreaks of fulminant hepatitis (Labrea black fever) in the western Brazilian Amazon region. *J. Gen. Virol.* 2009; 90(11):2638–43. DOI: 10.1099/vir.0.013615-0.
- Семенов А. В., Останкова Ю. В., Ногойбаева К.А., Касымбекова К.Т., Лаврентьева И.Н., Тобокалова С.Т., Тоголян А.А. Особенности молекулярной эпидемиологии сочетанной инфекции ВГВ/ВГД в Кыргызстане. *Инфекция и иммунитет*. 2016; 6(2):141–50. DOI: 10.15789/2220-7619-2016-2-141-150.
- Kumar S., Stecher G., Tamura K. MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 7.0 for bigger datasets. *Mol. Biol. Evol.* 2016; 33(7):1870–4. DOI: 10.1093/molbev/msw054.
- Hong S., Chen P. Phosphorylation of Serine 177 of the Small Hepatitis Delta Antigen Regulates Viral Antigenomic RNA Replication by Interacting with the Processive RNA polymerase II. *J. Virol.* 2010; 84(3):1430–8. DOI: 10.1128/JVI.02083-09.
- Perveen S., Nasir M.I., Shahid S.M., Azhar A., Khan O.Y. Phylogenetic analysis of HDV isolates from HBsAg positive patients in Karachi, Pakistan. *Virology*. 2012; 9:162. DOI: 10.1186/1743-422-X-9-162.
- Le Gal F., Badur S., Hawajri N.A., Akyüz F., Kaymakoglu S., Brichtler S., Zoulim F., Gordien E., Gault E., Deny P. Current hepatitis delta virus type 1 (HDV1) infections in central and eastern Turkey indicate a wide genetic diversity that is probably linked to different HDV1 origins. *Arch. Virol.* 2012; 157:647–59. DOI: 10.1007/s00705-011-1212-8.
- Ivaniushina V., Radjef N., Alexeeva M., Gault E., Semenov S., Salhi M., Kiselev O., Dény P. Hepatitis delta virus genotypes I and II cocirculate in an endemic area of Yakutia, Russia. *J. Gen. Virol.* 2001; 82(11):2709–18. DOI: 10.1099/0022-1317-82-11-2709.
- Sadeghian H., Varasteh N., Esmaealzadeh A., Nomani H., Alimardani M., Davoodnejad M., Meshkat M., Ahadi M., Sepahi S., Rostami S., Meshkat Z. Distribution of hepatitis delta virus genotypes in Mashhad, northeast Iran. *Jundishapur J. Microbiol.* 2015; 8(2):e14908. DOI: 10.5812/ijm.14908.
- Анарбаева Ж.А., Ташпологова А.Ш., Суранбаева Г.С., Жакишева Э.М., Максытов С.Т. Хронический вирусный гепатит Дельта. *Здравоохранение Кыргызстана*. 2017; 2:9–13.
- Яшечкин Ю.И., Найденкова Е.В., Бугоркова Т.В., Щербакова С.А. Создание базы данных по характеристикам нуклеотидных последовательностей геномов штаммов возбу-

телей бактериальных и вирусных инфекций I–II групп патогенности. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2013; 1:70–3. DOI: 10.21055/0370-1069-2013-1-70-73.

References

- Casaca A., Fardilha M., da Cruz e Silva E., Cunha C. The heterogeneous ribonuclear protein C interacts with the hepatitis delta virus small antigen. *Viol. J.* 2011; 8:358. DOI: 10.1186/1743-422-X-8-358.
- Giersch K., Dandri M. Hepatitis B and delta virus: Advances on studies about interactions between the two viruses and the infected hepatocyte. *J. Clin. Transl. Hepatol.* 2015; 3(3):220–9. DOI: 10.14218/JCTH.2015.00018.
- Koytak E.S., Yurdaydin C., Glenn J.S. Hepatitis D. *Curr. Treat. Options Gastroenterol.* 2007; 10:456–63. DOI: 10.1007/s11938-007-0045-8.
- Ni Y., Zhang Z., Engelskircher L., Verch G., Tu T., Lempp F.A., Urban S. Generation and characterization of a stable cell line persistently replicating and secreting the human hepatitis delta virus. *Sci. Rep.* 2019; 9:10021. DOI: 10.1038/s41598-019-46493-1.
- Chen H.Y., Shen D.T., Ji D.Z., Han P.C., Zhang W.M., Ma J.F., Chen W.S., Goyal H., Pan S., Xu H.G. Prevalence and burden of hepatitis D virus infection in the global population: a systematic review and meta-analysis. *Gut.* 2018; 68:512–21. DOI: 10.1136/gutjnl-2018-316601.
- Sagnelli E., Sagnelli C., Pisaturo M., Macera M., Coppola N. Epidemiology of acute and chronic hepatitis B and delta over the last 5 decades in Italy. *World J. Gastroenterol.* 2014; 20(24):7635–43. DOI: 10.3748/wjg.v20.i24.7635.
- Khodjaeva M., Ibadullaeva N., Khikmatullaeva A., Joldasova E., Ismoilov U., Colombo M., Caviglia G.P., Rizzetto M., Musabaev E. The medical impact of hepatitis D virus infection in Uzbekistan. *Liver Int.* 2019; 39(11):2077–81. DOI: 10.1111/liv.14243.
- Wranke A., Pinheiro Borzacov L.M., Parana R., Lobato C., Hamid S., Ceausu E., Dalekos G.N., Rizzetto M., Turcanu A., Niro G.A., Lubna F., Abbas M., Ingiliz P., Buti M., Ferenci P., Vanvolleghem T., Hayden T., Dashdorj N., Motoc A., Cornberg M., Abbas Z., Yurdaydin C., Manns M.P., Wedemeyer H., Hardtke S., Hepatitis Delta International Network. Clinical and virological heterogeneity of hepatitis delta in different regions world-wide: the Hepatitis Delta International Network (HDIN). *Liver Int.* 2018; 38(5):842–50. DOI: 10.1111/liv.13604.
- De Sousa B.C., Cunha C. Development of mathematical models for the analysis of hepatitis delta virus viral dynamics. *PLoS One.* 2010; 5(9):e12512. DOI: 10.1371/journal.pone.0012512.
- Nogoiybaeva K.A., Tobokalova S.T., Bekenova D.S., Nazarbaeva Zh.N. Chronic hepatitis B without/with a delta agent in Kyrgyzstan (epidemic situation, clinical features). *Infektsiya i Immunitet [Russian Journal of Infection and Immunity]*. 2019. 9(3–4):577–82. DOI: 10.15789/2220-7619-2016-2-141-150.
- Niro G.A., Smedile A. Current concept in the pathophysiology of hepatitis delta infection. *Curr. Infect. Dis. Rep.* 2012; 14:9–14. DOI: 10.1007/s11908-011-0233-5.
- Lempp F.A., Ni Y., Urban S. Hepatitis delta virus: insights into a peculiar pathogen and novel treatment options. *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.* 2016; 13:580–9. DOI: 10.1038/nrgastro.2016.126.
- Le Gal F., Gault E., Ripault M.P., Serpaggi J., Trinchet J.C., Gordien E., Dény P. Eighth major clade for hepatitis delta virus. *Emerg. Infect. Dis.* 2006; 12(9):1447–50. DOI: 10.3201/eid1209.060112.
- Wedemeyer H., Manns M.P. Epidemiology, pathogenesis and management of hepatitis D: update and challenges ahead. *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.* 2010; 7(1):31–40. DOI: 10.1038/nrgastro.2009.205.
- Hsu S.C., Syu W.J., Sheen I.J., Liu H.T., Jeng K.S., Wu J.C. Varied assembly and RNA editing efficiencies between genotypes I and II hepatitis D virus and their implications. *Hepatology.* 2002; 35(3):665–72. DOI: 10.1053/jhep.2002.31777.
- Gomes-Gouvêa M.S., Soares M.C., Bensabath G., de Carvalho-Mello I.M., Brito E.M., Souza O.S., Queiroz A.T., Carrilho F.J., Pinho J.R. Hepatitis B virus and hepatitis delta virus genotypes in outbreaks of fulminant hepatitis (Labrea black fever) in the western Brazilian Amazon region. *J. Gen. Virol.* 2009; 90(11):2638–43. DOI: 10.1099/vir.0.013615-0.
- Semenov A.V., Ostankova Yu. V., Nogoybaeva K.A., Kasymbekova K.T., Lavrentieva I.N., Tobokalova S.T., Totolyan A.A. Molecular epidemiology features of HBV/HDV co-infection in Kyrgyzstan. *Infektsiya i Immunitet [Russian Journal of Infection and Immunity]*. 2016. 6(2):141–50. DOI: 10.15789/2220-7619-2016-2-141-150.
- Kumar S., Stecher G., Tamura K. MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 7.0 for bigger datasets. *Mol. Biol. Evol.* 2016; 33(7):1870–4. DOI: 10.1093/molbev/msw054.
- Hong S., Chen P. Phosphorylation of Serine 177 of the Small Hepatitis Delta Antigen Regulates Viral Antigenomic RNA Replication by Interacting with the Processive RNA polymerase II. *J. Virol.* 2010; 84(3):1430–8. DOI: 10.1128/JVI.02083-09.
- Perveen S., Nasir M.I., Shahid S.M., Azhar A., Khan O.Y. Phylogenetic analysis of HDV isolates from HBsAg positive patients in Karachi, Pakistan. *Viol. J.* 2012; 9:162. DOI: 10.1186/1743-422-X-9-162.
- Le Gal F., Badur S., Hawajri N.A., Akyüz F., Kaymakoglu S., Brichler S., Zoulim F., Gordien E., Gault E., Dény P. Current hepatitis delta virus type I (HDV1) infections in central and eastern Turkey indicate a wide genetic diversity that is probably linked to different HDV1 origins. *Arch. Virol.* 2012; 157:647–59. DOI: 10.1007/s00705-011-1212-8.
- Ivaniushina V., Radjef N., Alexeeva M., Gault E., Semenov S., Salhi M., Kiselev O., Dény P. Hepatitis delta virus genotypes I and II cocirculate in an endemic area of Yakutia, Russia. *J. Gen. Virol.* 2001; 82(11):2709–18. DOI: 10.1099/0022-1317-82-11-2709.
- Sadeghian H., Varasteh N., Esmaealzadeh A., Nomani H., Alimardani M., Davoodnejad M., Meshkat M., Ahadi M., Sepahi S., Rostami S., Meshkat Z. Distribution of hepatitis delta virus genotypes in Mashhad, northeast Iran. *Jundishapur J. Microbiol.* 2015; 8(2):e14908. DOI: 10.5812/jjm.14908.
- Anarbaeva Zh.A., Tashpolotova A.Sh., Suranbaeva G.S., Zhakishva E.M., Maksytov S.T. Chronic viral hepatitis Delta. *[Healthcare in Kyrgyzstan]*. 2017; 2:9–13.
- Yashechkin Y.I., Naydenova E.V., Bugorkova T.V., Shcherbakova S.A. Setting-up of the Database on the Nucleotide Sequences of the Genomes of the Strains of Bacterial and Viral Infections Agents of the I–II Pathogenicity Groups. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2013; (1):70–3. DOI: 10.21055/0370-1069-2013-1-70-73.

Authors:

Ostankova Yu.V., Zueva E.B. Saint-Petersburg Pasteur Institute. Saint Petersburg, Russian Federation.

Semenov A.V. Saint-Petersburg Pasteur Institute; Saint Petersburg, Russian Federation. Saint-Petersburg State Medical University n.a. acad. I.P. Pavlov; Saint Petersburg, Russian Federation. North-Western State Medical University n.a. I.I. Mechnikov; Saint Petersburg, Russian Federation.

Kasymbekova K.T., Tobokalova S.T. Kyrgyz State Medical Institute for Advanced Training and Retraining n.a. S.B. Daniyarova. Bishkek, Kyrgyz Republic.

Nogoybaeva K.A. Kyrgyz State Medical Institute for Advanced Training and Retraining n.a. S.B. Daniyarova; Bishkek, Kyrgyz Republic. Kyrgyz State Medical Academy n.a. I.K. Akhunbaeva; Bishkek, Kyrgyz Republic.

Об авторах:

Останкова Ю.В., Зуева Е.Б. Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Пастера. Санкт-Петербург, Российская Федерация.

Семенов А.В. Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Пастера; Санкт-Петербург, Российская Федерация. Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова; Санкт-Петербург, Российская Федерация. Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова; Российская Федерация.

Касымбекова К.Т., Тобокалова С.Т. Кыргызский государственный медицинский институт переподготовки и повышения квалификации им. С.Б. Даниярова. Бишкек, Кыргызская Республика.

Ногойбаева К.А. Кыргызский государственный медицинский институт переподготовки и повышения квалификации им. С.Б. Даниярова; Бишкек, Кыргызская Республика. Кыргызская государственная медицинская академия им. И.К. Ахунбаева; Бишкек, Кыргызская Республика.

Поступила 03.02.20.

Отправлена на доработку 15.02.20.

Принята к публ. 12.03.20.