

КЛИНИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ ГЕНОМА ВИРУСА ПРИ ОСТРОМ ВИРУСНОМ ГЕПАТИТЕ В

Е.Н.Прийма, К.Е.Новак, Е.В.Эсауленко, Н.В.Иванова*, М.В.Алексеева**

THE CLINICAL SIGNIFICANCE OF MOLECULAR GENETIC RESEARCH OF THE VIRUS GENOME IN ACUTE VIRAL HEPATITIS B

E.N.Priima, K.E.Novak, E.V.Esaulenko, N.V.Ivanova*, M.V.Alekseeva**

Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет

**Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Пастера*

***Клиническая инфекционная больница им. С.П.Боткина*

Цель работы — охарактеризовать молекулярно-генетическую структуру вируса гепатита В, циркулирующего в Санкт-Петербурге, и описать клинико-лабораторные особенности острого вирусного гепатита В в зависимости от генотипа и инфицирования «диким», или мутантным штаммом вируса. Генотипирован вирус у 34 пациентов с острым вирусным гепатитом В. Проведен сравнительный анализ течения болезни у пациентов с D ($n = 29$) и A ($n = 5$) генотипом, а также в зависимости от наличия pre-core/core мутаций участка ВСР вируса ($n = 11$) или их отсутствия ($n = 23$). У анализируемых пациентов доминирует генотип D — 85,3% случаев и достоверно реже определяется генотип А — в 14,7% ($p = 0,001$). Значимых различий при анализе биохимических показателей и вирусной нагрузки в зависимости от генотипа вируса не выявлено. В 32,4% случаев выявляются pre-core мутации вируса гепатита В. Течение острого гепатита В у пациентов с мутантным штаммом вируса, по сравнению с инфицированными «диким штаммом», характеризовалось более значимой гипербилирубинемией, большим снижением ПТИ и выраженной недостаточностью белково-синтетической функции печени, что повышает риск развития неблагоприятных исходов и осложнений. Результаты молекулярно-генетического исследования генома вируса могут быть использованы врачами для выделения пациентов с острым гепатитом В в группы риска тяжелого течения заболевания с целью дальнейшей индивидуализации и оптимизации терапии, для предотвращения хронизации и развития осложнений.

Ключевые слова: острый гепатит В, генотип вируса, мутации вируса гепатита В, тяжелый гепатит молекулярно-генетические методы диагностики

The aim of this paper is to characterize the molecular genetic structure of hepatitis B virus circulating in St. Petersburg and describe the clinical and laboratory features of acute viral hepatitis B depending on the genotype and infection with "wild" or mutant virus strain. The virus with acute viral hepatitis B was genotyped in 34 patients. A comparative analysis of the course of the disease in patients with D ($n = 29$) and A ($n = 5$) genotypes, as well as depending on the presence of pre-core/core mutations of the HRV site ($n = 11$) or their absence ($n = 23$) was conducted. In the analyzed patients the genotype D dominates in 85,3% of cases and the genotype A — in 14,7% of cases ($p = 0,001$) is significantly less determined. There were no significant differences in the analysis of biochemical parameters and viral load depending on the genotype of the virus. In 32.4% of cases, pre-core mutations of hepatitis B virus are detected. Acute hepatitis B virus course in patients with a mutant strain of the virus, compared to those infected with the "wild strain", was characterized by more significant hyperbilirubinemia, a large decrease in PTI and severe insufficiency of protein-synthetic liver function, which increases the risk of adverse outcomes and complications. The results of this research can help the physicians to allocate patients at risk of severe acute viral hepatitis B and prevent chronic outcomes and complications by further individualization and optimization of therapy.

Ключевые слова: acute hepatitis B, virus genotype, mutations of hepatitis B virus, molecular and genetic methods of diagnostics

Вирус гепатита В (ВГВ) один из наиболее часто встречаемых среди населения Земли, а гепатит В (ГВ) является одной из приоритетных проблем здравоохранения во всем мире [1]. Вакцинопрофилактика позволила существенно снизить заболеваемость, однако ГВ продолжает регистрироваться во всех возрастных группах и входит в перечень социально-значимых заболеваний [2,3].

Острый гепатит В (ОГВ) может протекать крайне тяжело, в 1-4% случаев заканчиваться летально. Одной из наиболее тяжелых форм является фульминантная, при которой в 70-90% случаев пациенту требуется трансплантация печени. Инфицированные ВГВ подвержены высокому риску развития таких осложне-

ний, как цирроз печени, диагностируемый в том числе и у детей в 8,8% случаев, и гепатоцеллюлярная карцинома. Ежегодно от осложнений ВГВ погибает порядка 750 000 человек. В связи с этим важно как предупреждение перехода заболевания в хроническую форму, так и снижение риска развития осложнений [4-10].

ВГВ является самым изменчивым из ДНК-содержащих вирусов. Длительная эволюция ВГВ привела к развитию различных генотипов, субтипов, рекомбинантных типов и мутантов. Генотипы — это варианты вируса, отличающиеся друг от друга структурой генома не менее чем на 8%. На сегодняшний день известно 10 генотипов ВГВ, свыше 30 генотипов и более 150 мутаций [1].

Молекулярно-эпидемиологические исследования выявляют значительные различия в географическом распределении генотипов вируса ВГВ. Генотипы В и С наиболее часто встречаются в странах Азии; в США и странах Европы циркулируют генотипы А и D; F и E распространены в странах Африки, Центральной и Южной Америки [1].

Генотипы в свою очередь делятся на субгенотипы, которые имеют более 4%, но менее 8% различий в структуре генома. Такие генотипы, как E, G, H, I и J субгенотипов не имеют. В отечественной и зарубежной литературе появляется все больше данных, указывающих на то, что именно генотип ВГВ может влиять на скорость сероконверсии по HBeAg, тяжесть течения заболевания и частоту развития хронических форм [11].

В последние годы проведено множество исследований, свидетельствующих о том, что на течение заболевания влияет не только генотип вируса, но и наличие точечных мутаций, при которых происходят изменения на уровне одного или двух азотистых оснований. В геноме вируса имеются участки, наиболее подверженные определенным мутациям. Прежде всего, это области pre-core (мутация A1896) и core-promoter (мутация T1762/A1764). В работах отечественных и зарубежных авторов показано, что указанные мутации ассоциируются с тем или иным генотипом вируса [11,12].

Частота мутаций среди генотипов ВГВ также варьирует [11]. Проводимые исследования, посвященные влиянию генотипов и мутаций на патогенез и развитие заболевания, показали, что ОГВ, вызванный генотипами А и D, приводит к более высокой частоте хронизации инфекции, чем вызванный генотипами В и С. Для генотипа С характерна более высокая частота мутаций в основном промоторе гена (BCP), что коррелирует с более высокой вирусной нагрузкой, чем у генотипа В. При хроническом вирусном гепатите В (ХГВ) с генотипами вируса С и D наиболее часто встречаются мутации ядра базального промотора, а ГВ с этими генотипами вируса чаще других осложняются развитием цирроза печени и гепатоцеллюлярной карциномой [13-15].

Таким образом, использование молекулярно-генетических методов является перспективным для изучения характеристики эпидемического процесса и прогнозирования течения болезни.

Цель исследования — охарактеризовать молекулярно-генетическую структуру ВГВ, циркулирующего в Санкт-Петербурге, и описать особенности клинико-лабораторного течения болезни в зависимости от генотипа и инфицирования «диким», или мутантным штаммом вируса у пациентов с ОГВ.

Материалы и методы

Настоящее исследование выполнено на кафедре инфекционных болезней взрослых и эпидемиологии Санкт-Петербургского государственного педиатрического медицинского университета. Молекулярно-биологическое и молекулярно-генетическое исследование ВГВ проведено на базе НИИ микробиологии и эпидемиологии им. Л.Пастера.

В исследование включено 34 пациента (4 мужчины и 30 женщин) с ОГВ, госпитализированных в

клиническую инфекционную больницу им. С.П.Боткина в 2013-2017 гг. Средний возраст составил $34,2 \pm 3,2$ года.

ДНК ВГВ в плазме крови и вирусная нагрузка (ВН) определялись методом полимеразной цепной реакции. Генотипирование проведено с использованием реагентов АмплиСенс® HBV-генотип-FL. Секвенирование фрагментов проводили на генетическом анализаторе ABI-PRISM 3100 («AppliedBiosystems» США).

Определяли мутации генома ВГВ с использованием коммерческой тест-системы INNO-LiPA HBV Pre-core B (США) методом транскрипционной амплификации.

Клинические методы исследования включали опрос пациента, сбор анамнеза заболевания и эпидемиологического анамнеза, объективный осмотр с обследованием по системам и органам. Выполнялся клинический анализ периферической крови, оценивались биохимические показатели: содержание общего билирубина крови, активность трансаминаз (аланинаминотрансферазы — АлАТ и аспаратаминотрансферазы — АсАТ), общий белок и его фракции, протромбиновый индекс.

Статистическая обработка данных проводилась с использованием лицензионных пакетов программ Microsoft Excel 2007 и SPSS Statistica 17.0. Критический уровень достоверности нулевой статистической гипотезы (об отсутствии различий и влияний) принимали равным 0,05. Для анализа качественных переменных использовали критерий χ^2 Пирсона или критерий Фишера для таблиц 2×2 . Проверка закона распределения при необходимости анализа количественных переменных проводилась при помощи теста Колмогорова—Смирнова. Учитывая распределение, характеристики выборок представлены медианами и интерквартильными интервалами, для сравнения двух выборок использовался U тест Манна—Уитни.

Результаты и обсуждение

При сборе анамнеза было установлено, что никто из группы обследованных пациентов не вакцинирован против ГВ. Отказ от вакцинопрофилактики является весомой проблемой как в нашей стране, так и за ее пределами [16,17].

Преобладающим механизмом инфицирования ГВ является гемоконтактный. В Белоруссии наиболее часто заражение ГВ происходит при внутривенном введении наркотиков (36,0%), при выполнении парентеральных вмешательств (34,4%), в том числе и стоматологические процедуры [15]. В европейских странах также высокие показатели инфицирования при введении наркотических веществ, посещении стоматологических кабинетов и получения различных хирургических вмешательств [18,19].

Среди наблюдаемых нами пациентов в период, соответствующий инкубационному, 15 человек (48,2%) получали различные хирургические вмешательства, шестерым (19,1%) выполнялись стоматологические манипуляции, 5 женщинам (16,1%) проведено хирургическое прерывание беременности, 5 пациентов (19,1%) имели незащищенные половые контакты с больными ХВГ.

Много публикаций посвящено географическому распределению генотипов вируса. Исследовано, что на территории г. Санкт-Петербурга циркулирует 3 генотипа ВГВ: преобладающий D и реже встречающиеся генотипы С и А [1,20,21]. В нашем исследовании у анализируемых пациентов доминирует генотип D — 85,3% случаев, и достоверно реже определяется генотип А — в 14,7%, $p = 0,001$ (табл.1).

Таблица 1
Частота встречаемости генотипов и субтипов вируса у наблюдаемых пациентов

Генотип, субгенотип вируса	Количество пациентов (%) $N = 34$
A2	5 (14,7%)
D1	2 (5,9)
D2	26 (76,5%)
D3	1 (2,9%)

По данным эпидемиологического анамнеза трое из пяти пациентов с генотипом А в сроки, соответствующие инкубационному периоду, выезжали в Грузию, Армению и Абхазию, что не исключает завозной характер данных случаев. Среди пациентов с ОВГ, вызванным ВГВ D генотипа, о выезде в страны Европы сообщил только один человек, остальные не покидали Санкт-Петербург.

Исследования, проведенные в странах Африки, где широко распространен ВГВ генотипа А, показали, что заболевание, вызванное вирусом данного генотипа, несмотря на достаточно низкую вирусную нагрузку, протекает тяжело, с более выраженными, чем при других генотипах вируса, повреждениями печени (особенно субгенотип 1) и повышенным риском развития гепатоцеллюлярной карциномы [22].

В нашей выборке не выявлено статистически значимых различий при анализе биохимических показателей и вирусной нагрузки в зависимости от генотипа вируса (табл.2). Учитывая, что в исследование включены только пациенты с тяжелым течением ОВГ, заболевание сопровождалось выраженной гипербилирубинемией, снижением ПТИ, значительной увеличением активности печеночных ферментов.

Таблица 2
Лабораторные показатели наблюдаемых пациентов с ОВГ в зависимости от генотипа вируса

Критерий	Генотип А ($n=5$) Me (25/75)	Генотип D ($n=29$) Me (25/75)	P
АлАТ, МЕ/л	1837,5 (1232,3/2205,0)	2265,5 (1939,5/3384,0)	$\geq 0,05$
АсАТ, МЕ/л	1200,5 (937,8/2511,0)	1520,0 (942,3/1784,0)	$\geq 0,05$
Общий билирубин Мкмоль/л	271,0 (239,0/ 414,0)	257,5 (218,8/323,4)	$\geq 0,05$
ПТИ%	56,0 (51,5/64,0)	54,0 (46,3/58,5)	$\geq 0,05$
Вирусная нагрузка	$2,0 \times 10^5$ МЕ/мл ($4,8 \times 10^4$ / $5,3 \times 10^5$)	$1,2 \times 10^5$ МЕ/мл ($5,3 \times 10^4$ / $6,8 \times 10^5$)	$\geq 0,05$

Всем наблюдаемым пациентам определяли наличие мутаций pge-core/core участка ВСР (A1762/G1764). Для выявления влияния данных мутаций на течение ОВГ, были сформированы две группы:

- 1) пациенты с наличием мутаций ВГВ ($n = 12$);
- 2) пациенты с отсутствием мутаций (инфицированные «диким штаммом» ВГВ) ($n = 23$).

Длительность преджелтушного периода в обеих группах достоверно не различалась и составила 16 (14,7/18,3) и 17 дней (15,5/19,0) соответственно. Преджелтушный период протекал по смешанному типу в обеих группах. Не выявлено достоверных различий в частоте жалоб на боли в суставах и диспептические расстройства, наличие субфебрилитета. Статистически значимо чаще пациенты 1 группы предъявляли жалобы на слабость и снижение аппетита (табл.3).

Таблица 3
Структура жалоб, предъявляемых пациентами в преджелтушный период ОВГ

Жалобы	Группа 1 ($n = 11$)		Группа 2 ($n = 23$)		Критерий χ^2 Пирсона
	N	%	n	%	
Слабость	10	90,9	4	33,3	$\chi^2 = 7,987$ $p = 0,05$
Снижение аппетита	7	63,6	4	33,3	$\chi^2 = 5,232$ $p = 0,02$
Субфебрилитет	3	27,3	3	25,0	$\chi^2 = 0,140$ $p = 0,7$
Артралгии	+4	36,4	3	25,0	$\chi^2 = 0,350$ $p = 0,5$
Диспептические расстройства	5	45,5	3	25,0	$\chi^2 = 1,806$ $p = 0,2$

Желтушный период у инфицированных мутантным штаммом вируса был достоверно длиннее, чем у инфицированных «диким штаммом» ВГВ: 18 (17/21) и 14 дней (13/15), $p = 0,001$. Не выявлено достоверных различий в частоте встречаемости в желтушном периоде жалоб на слабость, тяжесть в правом подреберье и кожный зуд ($p \geq 0,05$). Статистически значимо пациентов 1 группы чаще беспокоили: ухудшение сна — 81,8% и 15,0% ($\chi^2 = 7,426$, $p = 0,006$), снижение аппетита — 100% и 25% ($\chi^2 = 13,554$, $p = 0,001$), тошнота — 72,7% и 15,0% ($\chi^2 = 7,340$, $p = 0,02$) соответственно (табл.4). При объективном обследовании у большего количества пациентов с наличием мутаций ВГВ, по сравнению с инфицированными «диким штаммом», отмечался выраженный геморрагический синдром — 90,9% и 55,5% ($\chi^2 = 8,250$, $p = 0,004$), и пятнистая сыпь — 36,4% и 25,0% ($\chi^2 = 0,350$, $p = 0,001$). У пациентов обеих групп с сопоставимой частотой обнаруживалась яркая желтуха и гепатоспленомегалия (табл.4).

Таблица 4

Структура жалоб и данные объективного осмотра в желтушный период пациентов с ОГВ в зависимости от инфицирования мутантным или «диким» штаммом вируса

Показатели	Группа 1 (n = 11)		Группа 2 (n = 23)		Критерий χ^2 Пирсона
	n	%	n	%	
Слабость	10	90,9	19	95	$\chi^2 = 1,982$ $p = 0,2$
Снижение аппетита	11	100	5	25	$\chi^2 = 13,55$ $p = 0,001$
Тошнота	8	72,7	3	15	$\chi^2 = 7,340$ $p = 0,007$
Ухудшение сна	9	81,8	5	15	$\chi^2 = 7,425$ $p = 0,005$
Метеоризм	6	54,5	6	33,3	$\chi^2 = 1,051$ $p = 0,36$
Кожный зуд	10	90,9	12	58,3	$\chi^2 = 3,159$ $p = 0,07$
Тяжесть в правом подреберье	7	63,6	3	15	$\chi^2 = 5,316$ $p = 0,06$
Желтуха	10	90,9	22	95,7	$\chi^2 = 0,516$ $p = 0,5$
Геморрагический синдром	10	90,9	11	55,5	$\chi^2 = 8,250$ $p = 0,004$
Сыпь	4	36,4	5	25	$\chi^2 = 0,350$ $p = 0,01$
Гепатомегалия	10	90,9	23	100	$\chi^2 = 2,154$ $p = 0,2$
Спленомегалия	10	90,9	18	75	$\chi^2 = 0,819$ $p = 0,4$

Известно более 150 мутантных штаммов ВГВ. Есть отдельные публикации о влиянии pre-core мутаций на клиническое течение ГВ, но все они посвящены только хроническому гепатиту В (ХГВ). Вопрос о влиянии мутаций ВСР на течение ОГВ является не до конца изученным. Исследования показали, что двойная мутация А1762\G1764 наиболее часто встречается в ВСР и нередко сопровождается дополнительными мутациями поблизости, что может способствовать утяжелению заболевания и ухудшению общего самочувствия, но проводимые исследования были посвящены ХГВ инфекции [20,23].

Течение ОГВ у пациентов с мутантным штаммом вируса, по сравнению с инфицированными «диким штаммом», характеризовалась более значимой гипербилирубинемией — 265 (231,3/313,5) и 227 Мкмоль/л (192,0/261,0), $p = 0,04$, большим снижением ПТИ — 56,5 (47,3/59,5) и 61,0% (59,0/63,0), $p = 0,04$, и выраженной недостаточностью белково-синтетической функции печени, которая проявлялась гипопропротеинемией — 58 (54,0/59,2) и 61 (59/63) г/л, $p = 0,03$, гипоальбуминемией — 26,5 (24,5/28,0) и 30,0 (28,5/31,5) г/л соответственно, $p = 0,01$, и гипергаммаглобулинемией.

Достоверных различий между выраженностью цитолиза и вирусной нагрузкой в обеих группах выявлено не было (табл.5).

Таблица 5

Данные лабораторного обследования пациентов с ОГВ в зависимости от инфицирования мутантным или «диким» штаммом вируса

Критерий	Группа 1 (n=11) Me (25/75)	Группа 2 (n=23) Me (25/75)	P
АлАТ, МЕ/л	2020,0 (1664,5/3571,8)	2220,0 (1920,0/3041,0)	$\geq 0,05$
АсАТ, МЕ/л	1484,5 (1145,3/2076,3)	1532,0 (907,0/1778,0)	$\geq 0,05$
Общий билирубин, Мкмоль/л	265,0 (231,3/313,5)	227,0 (192,0/261,0)	0,04
Албумины, г/л	26,5 (24,5/28,0)	30,0 (28,5/31,5)	0,01
Гамма-глобулины, %	27,5 (27,5/29,3)	26,0 (24,5/27,5)	$\geq 0,05$
Общий белок, г/л	58,0 (54,0/59,2)	61,0 (59,0/63,0)	0,03
ПТИ, %	56,5 (47,3/59,5)	64,0 (58,0/68,5)	0,04
Вирусная нагрузка, МЕ/мл	$5,42 \times 10^5$ ($8,45 \times 10^5/3,78 \times 10^6$)	$5,72 \times 10^5$ ($7,4 \times 10^4/6,7 \times 10^5$)	$\geq 0,05$

Вышеперечисленные клинико-лабораторные характеристики свидетельствуют о более тяжелом течении ОГВ при наличии мутации вируса, что повышает риск развития неблагоприятных исходов и осложнений, таких как переход в хроническое течение, развитие цирроза печени и гепатоцеллюлярной карциномы. Кроме того, без своевременно начатой терапии ОГВ с мутантным штаммом вируса повышается риск летального исхода. По литературным данным, летальность от ВГВ инфекции составляет 1-4% [4]. По описанию разных авторов двойные ВСР (А1762\G1764) мутации, утяжеляют течение ГВ и способствуют развитию острой печеночной недостаточности [21-24].

Заключение

Несмотря на принятые меры профилактики, остается контингент, не охваченный прививками против ГВ.

На территории Санкт-Петербурга циркулирует два генотипа вируса: А и D с преимущественным преобладанием генотипа D (85,3%), не оказывающих влияния на течение ОГВ.

В 32,4% случаев выявляются pre-core мутации ВГВ. У пациентов с ОГВ с мутациями ВГВ заболевание протекает тяжелее, чем при инфицировании диким штаммом.

Результаты молекулярно-генетического исследования генома вируса могут быть использованы врачами для выделения пациентов с острым гепатитом В в группы риска тяжелого течения заболевания с целью дальнейшей индивидуализации и оптимизации терапии, для предотвращения хронизации и развития осложнений.

1. Герасимова В.В., Левакова И.А., Бичурина М.А. и др. Молекулярно-эпидемиологические особенности вирусного гепатита В // Инфекция и иммунитет. 2015. Т.5. №4. С.297-302.
2. Постановление Правительства от 01.12.2004 №715 «Об утверждении перечня социально значимых заболеваний и перечня заболеваний, представляющих опасность для окружающих».
3. Скрипченко Н.В., Пронина Е.В., Лепехина Т.Г. и др. Медицинская реабилитация детей-реконвалесцентов инфекционных заболеваний в свете представлений международной классификации функционирования, ограничений жизнедеятельности и здоровья // Педиатр. 2015. Т.6. №3. С.41-47.
4. Эсауленко Е.В., Алексеева М.В., Сухорук А.А. и др. Фульминантный гепатит в реальной клинической практике // Инфекционные болезни. 2017. Т.15. №2. С.70-74.
5. Иногамова Г.З., Иноятова Ф.И., Абдуллаева Ф.Г. Информативность терминальных пептидов проколлагена I типа у детей с циррозом печени вирусной этиологии // Педиатр. 2017. Т.8. №1. С.142-143.
6. Catanach T.A., Sweet A.D., Nguyen N.D. et al. Fully automated sequence alignment methods are comparable to, and much faster than, traditional methods in large data sets: an example with hepatitis B virus // J.Peer. 2019. Vol.3. №7. P.6142. DOI:10.7717.
7. Lauber C., Seitz S., Mattei S. Deciphering the Origin and Evolution of Hepatitis B Viruses by Means of a Family of Non- enveloped Fish Viruses // Cell Host Microbe. 2017. Vol.13. №22(3). P.387-399. DOI: 10.1016/j.chom.
8. Новак К.Е., Карев В.Е., Дунаева Н.В. Посмертная морфологическая характеристика печени больных хроническими вирусными гепатитами с клиническими признаками цирроза // Российский медицинский журнал. 2011. №8. С8-11.
9. Новак К.Е. Клинико-морфологическая характеристика субкомпенсированного и декомпенсированного цирроза печени вирусной этиологии // Педиатр. 2011. Т.2. №2. С.47-52.
10. Новак К.Е. Анализ летальных случаев гепатоцеллюлярной карциномы на фоне хронических вирусных гепатитов // Актуальные вопросы инфекционной патологии. Тезисы III Межрегионального форума специалистов совместно с заседанием профильной комиссии Министерства здравоохранения Российской Федерации. 2018. С.72-73.
11. Lin C.L., Kao J.H. // Natural history of acute and chronic hepatitis B: The role of HBV genotypes and mutants // J. Best Practice & Research Clinical Gastroenterology. 2017. Vol.31. №3. P.249-255. DOI: 10.1016/j.bpg.
12. Yan Liu, Zhihui Xu, Yan Wang. RtM204Q May Serve as a Novel Lamivudine-Resistance-Associated Mutation of Hepatitis B Virus // PLoS ONE. 2014. V.9(2): e89015. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0089015/>
13. Xiao-Ling W., Jian-Ping R., Xue-Qing W. et al. Mutations in pre-core and basic core promoter regions of hepatitis B virus in chronic hepatitis B patients // Journal Gastroenterology. 2016. Vol.22. №11. P.3268-3274
14. Еллаева Е.А., Писарева М.М., Никитина О.Е. Роль мутантных форм вируса гепатита В в прогрессирующем течении хронического гепатита В // Ученые записки Петрозаводского гос. ун-та. 2014. Т.6. С.41-46.
15. Lin C.L., Kao J.H. The clinical implications of hepatitis B virus genotype: Recent advances // J. Gastroenterology Hepatology. 2011. Vol.1. P.123-130. DOI: 10.1111/j.1440-1746.2010.06541.
16. Lodato F., Mazzella G., Festi D. et al. Hepatocellular carcinoma prevention: a worldwide emergence between the opulence of developed countries and the economic constraints of developing nations // World Journal Gastroenterology. 2006. Vol.12. №45. P.7239-7249.
17. Островский И.М., Прохоров Е.В., Наричный М.Ю. Медицинская неграмотность родителей и её влияние на здоровье детей // Педиатр. 2016. Т.7. №4. С.109-112. DOI: 10.17816/PED74109-112.
18. Иванова М.А., Воробьев М.В. Заболеваемость и пути передачи вирусного гепатита В на территории Ивановской области за период с 2005 по 2012 // Социальные аспекты здоровья населения. 2013. Т.32. №4. С.1-8.
19. Akhtar F., Rehman S. A Public Health Analysis on Gaps in Disease Monitoring and Opportunities for Improved Care for the Management of Hepatitis B and C // J. Cureus. 2018. Vol.10. №1. P.2077. DOI 10.7759/cureus.2077.
20. Yi P., Chen R., Huang Y. Management of mother-to-child transmission of hepatitis B virus: Propositions and challenges // J. Clin. Virol. 2016. Vol.77. DOI: 10.1016/j.jcv.2016.02.003.
21. Еллаева Е.А., Никитина О.Е., Писарева М.М. и др. Генетические варианты вируса гепатита В у пациентов с хроническим гепатитом В // Журнал инфектологии. 2015. Т.7. №3. С.44-50.
22. Эсауленко Е.В., Понятишина М.В., Алексеева М.В. и др. Молекулярно-эпидемиологическая характеристика острого гепатита В в Северо-Западном федеральном округе // Инфекционные болезни. 2017. Т.15. №51. С.329.
23. Kramvis A. Molecular characteristics and clinical relevance of African genotypes and subgenotypes of hepatitis B virus // South African Medical Journal. 2018. Vol.108. №8b. P.17-21. DOI:10.7196/SAMJ.2018.v108i8b.13495.
24. Leng X.H., Chen E.Q., Du L.Y. et al. Biological characteristics of the A1762T/G1764A mutant strain of hepatitis B virus in vivo // Molecular Medicine Reports. 2015. Vol.12. №4. P.5141-5148.

References

1. Герасимова В.В., Левакова И.А., Бичурина М.А. и др. Молекулярно-эпидемиологические особенности вирусного гепатита В [Molecular epidemiological features of viral hepatitis B]. Infection and Immunity, 2015, vol.5, no. 4, pp. 297-302.
2. Government resolution No. 715 of 01.12.2004 "On approval of the list of socially significant diseases and the list of diseases posing danger to others".
3. Skripchenko N.V., Pronina E.V., Lepekhina T.G. et al. Meditsinskaya reabilitatsiya detei-rekonvalentsentov infektsionnykh zabolevaniy v svete predstavlenii mezhdunarodnoi klassifikatsii funktsionirovaniia, ogranichenii zhiznedeiatel'nosti i zdorov'ia [Medical rehabilitation of children-convalescents of infectious diseases in the light of the international classification of functioning, disability and health]. Pediatrician, 2015, vol.6, no. 3, pp. 41-47.
4. Esaulenko E.V., Alekseeva M.V., Sukhoruk A.A. et al. Fulminantnyi gepatit v real'noi klinicheskoi praktike [Fulminant hepatitis in real clinical practice]. Infectious Disease, 2017, vol.15, no. 2 pp. 70-74.
5. Inogamova G.Z., Inoiatova F.I., Abdullaeva F.G. Informativnost' terminal'nykh peptidov prokollagena I tipa u detei s tsirrozm pecheni virusnoi etiologii [Informativeness of procollagen terminal peptides of type I in children with cirrhosis of the liver viral etiology]. Pediatrician, 2017, vol. 8, no. 1, pp.142-143.
6. Catanach T.A., Sweet A.D., Nguyen N.D. et al. Fully automated sequence alignment methods are comparable to, and much faster than, traditional methods in large data sets: an example with hepatitis B virus. J.Peer, 2019, vol. 3, no. 7, pp. 6142. doi:10.7717.
7. Lauber C., Seitz S., Mattei S. Deciphering the Origin and Evolution of Hepatitis B Viruses by Means of a Family of Non- enveloped Fish Viruses. Cell Host Microbe, 2017, vol.13, no. 22(3), pp. 387-399. doi: 10.1016/j.chom.
8. Novak K.E., Karev V.E., Dunaeva N.V. Posmertal'naiia morfologicheskaiia kharakteristika pecheni bol'nykh khronicheskimi virusnymi gepatitami s klinicheskimi priznakami tsirroza [Postmortem morphological characteristics of the liver of patients with chronic viral hepatitis with clinical signs of cirrhosis]. Russian Open Medical Journal, 2011, no. 8, pp. 8-11.
9. Novak K.E. Kliniko-morfologicheskaiia kharakteristika subkompensirovannogo i dekompensirovannogo tsirroza pecheni virusnoi etiologii [Clinical and morphological characteristics of subcompensated and decompensated liver cirrhosis of viral etiology]. Pediatrician, 2011, vol. 2, no. 2, pp. 47-52.
10. Novak K.E. Analiz letal'nykh sluchaev gepatotselliularnoi kartsinomy na fone khronicheskikh virusnykh gepatitov [Analysis of fatal cases of hepatocellular carcinoma against the background of chronic viral hepatitis]. Aktual'nye voprosy infektsionnoi patologii. Tezisy III Mezhdunarodnogo foruma spetsialistov sovместno s zasedaniem profil'noi

- komissii Ministerstva zdavookhraneniia Rossiiskoi Federatsii - Topical Issues of Infectious Pathology. Proceedings of the III Interregional Forum of Specialists in Collaboration with the Meeting of the Profile Commission of the Ministry of Health of the Russian Federation., 2018, pp.72-73.
11. Lin C.L., Kao J.H. Natural history of acute and chronic hepatitis B: The role of HBV genotypes and mutants. *J. Best Practice & Research Clinical Gastroenterology*, 2017 vol.31, no. 3. pp.249-255. doi: 10.1016/j.bpg.
 12. Yan Liu, Zhihui Xu, Yan Wang. RtM204Q May Serve as a Novel Lamivudine-Resistance-Associated Mutation of Hepatitis B Virus. *PLoS ONE*, 2014, vol. 9(2). doi: 10.1371/journal.pone.0089015/
 13. Xiao-Ling W., Jian-Ping R., Xue-Qing W. et al. Mutations in pre-core and basic core promoter regions of hepatitis B virus in chronic hepatitis B patients. *Journal Gastroenterology*, 2016, vol.22, no. 11, pp. 3268-3274
 14. Elpaeva E.A., Pisareva M.M., Nikitina O.E. Rol' mutantnykh form virusa gepatita B v progressivuiushchem techenii khronicheskogo gepatita B [The role of mutant forms of hepatitis B virus in the progressive course of chronic hepatitis B]. *Uchenye zapiski Petrozavodskogo gosudarstvennogo universiteta*, 2014, vol. 6. pp. 41-46.
 15. Lin C.L., Kao J.H. The clinical implications of hepatitis B virus genotype: Recent advances. *J. Gastroenterology Hepatology*, 2011, vol. 1, pp.123-130. doi: 10.1111/j.1440-1746.2010.06541.
 16. Lodato F., Mazzella G., Festi D. et al. Hepatocellular carcinoma prevention: a worldwide emergence between the opulence of developed countries and the economic constraints of developing nations. *World Journal Gastroenterology*, 2006, vol.12, no. 45, pp.7239-7249.
 17. Ostrovskii I.M., Prokhorov E.V., Narizhnyi M.Iu. Meditsinskaiia negramotnost' roditel'ei i ee vliianie na zdorov'e detei [Medical illiteracy of parents and its impact on children's health]. *Pediatrician*, 2016, vol.7, no. 4. pp. 109-112. doi: 10.17816/PED74109-112.
 18. Ivanova M.A., Vorob'ev M.V. Zaboлеваemost' i puti peredachi virusnogo gepatita V na territorii Ivanovskoi oblasti za period s 2005 po 2012 [Incidence and ways of transmission of viral hepatitis B in the Ivanovo region over the period from 2005 to 2012]. *Sotsial'nye aspekty zdorov'ia naseleniia*, 2013, vol. 32, no. 4, pp. 1-8.
 19. Akhtar F., Rehman S. A Public Health Analysis on Gaps in Disease Monitoring and Opportunities for Improved Care for the Management of Hepatitis B and C. *J. Cureus*, 2018, vol.10, no. 1, P. 2077. doi: 10.7759/cureus.2077.
 20. Yi P., Chen R., Huang Y. Management of mother-to-child transmission of hepatitis B virus: Propositions and challenges. *J. Clin. Virol.*, 2016., vol.77. doi: 10.1016/j.jcv.2016.02.003.
 21. Elpaeva E.A., Nikitina O.E., Pisareva M.M. i dr. Geneticheskie varianty virusa gepatita B u patsientov s khronicheskim gepatitom B [Genetic variants of hepatitis B virus in patients with chronic hepatitis B]. *Zhurnal infektologii*, 2015, vol.7, no. 3, pp. 44-50.
 22. Esaulenko E.V., Poniatishina M.V., Alekseeva M.V. et al. Molekuliarno-epidemiologicheskaia kharakteristika ostrogo gepatita B v Severo-Zapadnom federal'nom okruge [Molecular epidemiological characteristics of acute hepatitis B in the North-Western Federal district]. *Infektsionnye bolezni - Infectious Diseases*, 2017, vol.15, no.1. P.329.
 23. Kramvis A. Molecular characteristics and clinical relevance of African genotypes and subgenotypes of hepatitis B virus. *South African Medical Journal*, 2018., vol.108, no. 8b. pp. 17-21. doi:10.7196/SAMJ.2018.v108i8b.13495.
 24. Leng X.H., Chen E.Q., Du L.Y. et al. Biological characteristics of the A1762T/G1764A mutant strain of hepatitis B virus in vivo. *Molecular Medicine Reports*, 2015, vol. 12, no. 4, pp.5141-5148.