

Мицура В.М.¹, Воропаев Е.В.¹, Осипкина О.В.¹, Терешков Д.В.², Змушко М.Н.³, Скуратов А.Г.¹,
Фомченко Н.Е.¹, Воропаева А.Е.¹

¹ Гомельский государственный медицинский университет, Гомель, Беларусь

² Гомельская областная инфекционная клиническая больница, Гомель, Беларусь

³ Гомельская станция переливания крови, Гомель, Беларусь

Mitsura V.¹, Voropaev E.¹, Osipkina O.¹, Tereshkov D.², Zmushko M.³, Skuratau A.¹, Fomchenko N.¹,
Voropaeva A.¹

¹ Gomel State Medical University, Gomel, Belarus

² Gomel Regional Infectious Clinical Hospital, Gomel, Belarus

³ Gomel Blood Transfusion Center, Gomel, Belarus

Выявление ДНК вирусов TTV и SENV у пациентов с заболеваниями печени и доноров крови

Detection of DNA of TT and SEN viruses in patients
with liver diseases and blood donors

Резюме

К настоящему времени остается практически не изученной частота выявления сравнительно недавно открытых вирусов TTV и SENV как в общей популяции населения Республики Беларусь, так и при отдельных формах патологии (в том числе при заболеваниях печени). Это во многом было связано с отсутствием надлежащей методики их обнаружения в биологических средах организма, что явилось основанием к ее созданию на основе полимеразной цепной реакции. Нами выбрана и отработана методика выявления ДНК вирусов TTV и SENV при помощи полимеразной цепной реакции. С ее помощью оценивали частоту распространенности данных инфекций у 138 пациентов с заболеваниями печени и у 47 доноров крови. Частота выявления TTV у пациентов с заболеваниями печени составила 48,6%, у доноров крови – 38,3%. ДНК SENV обнаружена у 66% доноров крови и у 46,4% пациентов. Шансы обнаружения ДНК TTV оказались в 2 раза выше у пациентов с маркерами парентеральных вирусных гепатитов.

Ключевые слова: вирусы TTV и SENV, доноры, пациенты, заболевания печени.

Abstract

Recently discovered TT and SEN viruses are often detected in patients with liver diseases and in the general population, but the frequency of detection was not studied in the Republic of Belarus, and their clinical significance remains unclear. We have selected and implemented a technique of identification of the DNA of TT and SEN viruses using the polymerase chain reaction. The incidence of these infections in 138 patients with liver disease and in 47 blood donors was assessed. The detection rate of TTV in patients with liver disease is 48.6%, in blood donors – 38.3%. SENV DNA was detected in 66% of blood donors and in 46.4% of patients. The chances of TTV DNA detection were 2 times higher in patients with the markers of parenteral viral hepatitis.

Keywords: TTV, SENV, blood donors, patients, liver disease.

■ ВВЕДЕНИЕ

К этиологическим агентам, способным вызывать поражение печени, кроме вирусов гепатитов А, В, С, D, Е, относят и некоторые другие вирусы, условно обозначаемые как вирусы гепатитов «ни А, ни Е». К ним относятся вирусы TTV и SENV.

В 1997 г. японские исследователи во главе с Т. Нишизава выделили новый ДНК-содержащий вирус от пациентов с посттрансфузионным гепатитом неизвестной этиологии. Этот вирус получил название TTV (transfusion-transmitted virus – вирус, передающийся при переливании крови) [1]. TTV имеет сферическую форму, размеры 30–50 нм, наружная оболочка отсутствует. Сначала он был отнесен к семейству *Circoviridae*, однако в настоящее время полагают, что он является первым известным членом нового семейства вирусов *Anelloviridae* [2]. Геном TTV состоит из кольцевой одноцепочечной молекулы ДНК размером около 3,8 тысячи нуклеотидов. Последовательность генома TTV включает две большие открытые рамки считывания (ORF1 и ORF2) и несколько малых, а также нетранслируемый регион (UTR), составляющий примерно 30% генома. ORF1 кодирует вирусный белок капсида, ORF2 – неструктурные белки [3, 4]. Популяция вируса крайне неоднородна. По одним данным, все штаммы разделяют на 16 генотипов (G1-G16), внутри каждого из них определяют субтипы. По другим – известно 23 генотипа вируса. Некоторые исследователи классифицируют более 40 генотипов [5–7]. Основным методом, использованным для изучения распространения TTV, является метод, основанный на полимеразной цепной реакции (ПЦР). Для ее проведения используются праймеры к консервативному региону ДНК TTV (N22). С помощью ПЦР ДНК TTV можно идентифицировать в различных биологических субстратах, нижним пределом детекции является 10^2 – 10^3 копий в 1 мл плазмы крови [3, 7, 8]. Однако из-за высокой изменчивости вирусного генома сложно найти универсальный набор праймеров для всех существующих TTV-генотипов. Обнаружение TTV методом ПЦР-анализа также затруднено из-за низкой вирусной нагрузки в сыворотке крови. Использование праймеров к UTR региону увеличивает частоту выявления ДНК TTV по сравнению с праймерами кодирующих регионов [8].

Впервые TTV описан как вирус, передающийся с кровью [1]. Наиболее часто обнаруживаемый в сыворотке крови, он вместе с тем детектируется в слюне, смывах с ротоглотки, грудном молоке, семенной жидкости, вагинальных выделениях, фекалиях [9]. Гепатотропность этого вируса подтверждает определение в клетках печени репликативных форм ДНК TTV, а также тот факт, что в биоптатах печени его концентрация превышает концентрацию в плазме, фекалиях и желчи в 10 и более раз [10].

По данным многочисленных исследований установлена широкая распространенность TTV среди населения многих регионов мира [11–13]. Выявление ДНК TTV проводили в разных группах населения: среди доноров, медработников, у пациентов, находящихся на диализе, пациентов с вирусными гепатитами В, С, циррозом печени, ВИЧ-инфекцией, в группах риска по половому пути передачи, а также в общей популяции. Показано, что TTV-инфекция статистически чаще регистрируется среди пациентов, имевших в анамнезе переливание крови, по сравнению

с теми, кто не получал гемотрансфузий [14]. У доноров крови доля инфицированных TTV составила: в США – 12,8% [15], в Польше – 78% [16], в Российской Федерации – 55% [11], а среди российских спортсменов, обследованных с помощью высокочувствительного ПЦР теста, – до 94% [13]. Показано, что наличие TTV чаще выявляется у пациентов с гепатитами В и С, чем в контрольных группах у лиц без гепатита [14, 17].

Несмотря на широкое распространение TTV, его патогенность остается предметом дискуссий. В связи с гепатотропностью вируса особый интерес представляет его роль в развитии заболеваний печени. Не исключена вероятность развития острого гепатита, ассоциированного с TTV [6, 18]. Обнаружение в течение длительного времени ДНК TTV в сыворотке крови пациентов на фоне нормальных показателей морфофункциональной целостности печени указывает на существование бессимптомного носительства [19]. В то же время показано, что наличие TTV осложняет течение хронического вирусного гепатита С, ускоряет прогрессирование фиброза печени и чаще приводит к развитию гепатоцеллюлярной карциномы [20]. Российскими авторами на основе проведенных исследований сделан вывод о том, что хронический гепатит, ассоциированный с TTV-инфекцией, чаще всего характеризуется малосимптомным течением с низкой степенью активности заболевания (70%); в то же время существует возможность прогрессирования фиброза печени до 4-й стадии по METAVIR (3,1%) [18, 21].

В 1999 г. появилось первое сообщение о SEN-вирусе (SENV), обнаруженном у больного ВИЧ-инфекцией, который являлся потребителем инъекционных наркотиков. Исследования показали, что этот вирус по физико-химическим и структурным характеристикам близок к TTV. SENV – вирус небольших размеров, не имеет оболочки, содержит одноцепочечную кольцевую ДНК, около 3900 нуклеотидов, имеет 3 рамки считывания [22, 23]. Существует несколько генотипов вируса: их обозначили буквами А, В, С, D, E, F, G, H. ДНК различных генотипов SENV отличаются друг от друга на 15–40%, а от ДНК близких к ним TTV – на 40–60% [22]. Наиболее пристальное внимание уделяется двум генотипам SENV: D и H (SENV-D и SENV-H), так как установлено, что именно эти варианты чаще всего ассоциируются с посттрансфузионным гепатитом [23, 24]. Уровень распространения SENV варьирует в зависимости от географического региона. Так, частота выявления ДНК SENV среди доноров крови в США составляет 1,8% [24], а на Тайване этот показатель достигает 24,2% [25]. В группах лиц с повышенным риском инфицирования показатели распространения SENV значительно выше, чем среди первичных доноров. Показано, что вирус присутствует у 30% пациентов, имеющих в анамнезе трансфузию крови, и только у 3% лиц, не получивших переливание [24]. Частота инфицирования SENV значительно выше среди пациентов, пребывающих на гемодиализе, чем у «здоровых» лиц [26, 27]. На основании этих наблюдений был сделан вывод о парентеральной передаче этого вируса. Несмотря на накопление информации о SENV, остается открытым вопрос о его этиологической роли в развитии гепатита. До сих пор не получено убедительных данных, что SENV способен вызывать гепатит или ухудшать течение заболевания печени при коинфекции с вирусами гепатитов В (ВГВ) и С (ВГС) [24, 26–28]. Кроме того, некоторые исследователи отмечают меньшую частоту

распространенности SENV у пациентов с хроническими гепатитами В и С, чем у здоровых лиц [29]. Также обнаружено, что уровень печеночных трансаминаз при коинфекции SENV/ВГВ, SENV/ВГС значительно ниже, чем при моноинфекции ВГВ [29] и ВГС [30]. Исходя из этого, высказано предположение о положительном влиянии SENV на течение заболевания печени при коинфекции с ВГВ и ВГС.

Таким образом, информация о распространенности TTV и SENV в различных группах населения из многих регионов мира очень противоречива, как и данные о клиническом значении этих вирусов. Методы их выявления не стандартизованы и продолжают совершенствоваться. В связи с этим актуальность изучения данных инфекций не вызывает сомнений, дальнейшие исследования позволят определить роль TTV и SENV в развитии патологии печени.

■ ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Разработать методику (алгоритм технологической процедуры) выявления ДНК вирусов TTV и SENV, а также оценить с ее использованием частоту распространенности данных инфекций у пациентов с заболеваниями печени и доноров крови.

■ МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Всего обследовано 185 человек, из которых 47 составили здоровые лица – безвозмездные доноры Гомельской станции переливания крови, и 138 пациентов с заболеваниями печени (острым гепатитом – 30, хроническим гепатитом – 57, в стадии цирроза печени – 51). Все участники исследования были информированы о целях исследования и предстоящих процедурах, у всех было получено информированное письменное согласие на участие в исследовании.

В качестве материала для выделения ДНК с целью определения вирусов SEN и TTV использована сыворотка крови пациентов. Для предотвращения свертывания кровь для анализа объемом 1000 мкл помещали в центрифужную пробирку вместимостью 1,5 мл, содержащую 100 мкл 0,5 моль/л ЭДТА. Для выделения ДНК использовали готовые коммерческие наборы «Проба-НК» («ДНК-Технология», Россия).

Аmplификацию проводили с использованием амплификатора Palm Cycler фирмы Corbett Research (Австралия). Детекцию продуктов ПЦР проводили с помощью горизонтального гель-электрофореза (агароза 1,7%). Для проведения ПЦР и электрофоретической детекции использовали реагенты фирмы Thermo Scientific (США). Электрофорез проводили по стандартной схеме, в качестве красителя применяли раствор бромистого этидия. Для визуализации полученных результатов использовали видеосистему фирмы Bio-Rad (США) Gel Doc XR (программа Quanti One той же фирмы). Соответствие амплифицированных фрагментов искомым вирусам устанавливали с помощью генетического анализа нуклеотидной последовательности (метод секвенирования по Сэнгеру). Электрофоретическое разделение флуоресцентно-меченых продуктов секвенирующей реакции проводили с помощью генетического анализатора ABI PRISM 310 фирмы Applied Biosystems (США), используя реагенты той же фирмы. Анализ полученных результатов проводили при помощи программного пакета Sequencing Analysis Software 5.1.1

Таблица 1

Структура праймеров для выявления регионов N22 и UTR вируса TTV

Название праймера, пробы	Регион	Нуклеотидная последовательность	Размер фрагмента, п.н.
NG059F	N22	ACAGACAGAGGAGAAGGCAACATG	271
NG063-R		CTGGCATTTCACATTTCCAAAGTT	
NG061-R		GGCAACATGTTATGGATAGACTGG	
TTVT801-F	UTR	GCTACGCTACTAACCACGTG	199
TTVT935-R		CTBCGGTGTGTAAACTCAC	

(Applied Biosystems, США). Полученные данные о нуклеотидной последовательности в формате FASTA были использованы для поиска с помощью программы BLAST (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast/>).

Статистическая обработка полученной информации проводилась с помощью программы Statistica v 6.0. Для анализа количественных данных использовался непараметрический критерий χ^2 , точный критерий Фишера, тест Манна – Уитни. Расчет доверительных интервалов (ДИ) проводился с помощью откорректированного метода Вальда. Статистически значимой считалась 95%-я вероятность различий ($p < 0,05$).

■ РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Выявление ДНК вируса TTV проводили по двум регионам: N22 и UTR. Для выявления региона N22 использовали полугнездовой способ ПЦР (semi-nested PCR), для выявления UTR-региона – стандартный протокол ПЦР-анализа. Структура праймеров, использованных для выявления регионов N22 и UTR вируса TTV (производство «Праймтех», Беларусь), приведена в табл. 1.

Выявление региона N22 вируса TTV

Программа амплификации для выявления региона N22 вируса TTV (первый раунд): денатурация 1-й цикл – 95 °С, 3 мин; 35 циклов 94 °С – 30 с, 60 °С – 45 с, 72 °С – 45 с; финальная элонгация 1 цикл 72 °С – 2 мин. Ампликоны, полученные в результате первого раунда ПЦР, использовали для второго раунда (программа амплификации аналогична таковой для первого раунда, но количество циклов уменьшено до 25). В результате амплификации получен целевой продукт размером 271 п.н. (электрофореграмма на рис. 1).

Генетический анализ нуклеотидной последовательности амплифицированных фрагментов показал, что они действительно соответствуют региону N22 вируса TTV. Образцы, в которых наличие ДНК вируса TTV установлено методом секвенирования, использовали в качестве положительного контроля. Отсутствие ПЦР-реакции в положительном образце указывало на некорректность при составлении ПЦР-смеси или программы амплификации. Отрицательный контрольный образец представлял собой дистиллированную воду и был предназначен для выявления артефактов в ходе реакции. Наличие амплификации в данной пробирке указывало на загрязнение реагентов или расходных материалов чужеродной ДНК. Положительный и отрицательный

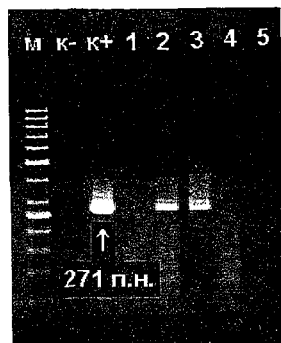


Рис. 1. Электрофоретическая детекция продуктов амплификации второго раунда ПЦР для выявления региона N22 вируса TTV

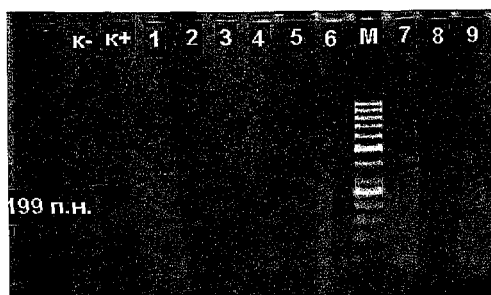


Рис. 2. Электрофоретическая детекция продуктов амплификации второго раунда ПЦР для выявления региона UTR вируса TTV

контрольные образцы наряду с образцами экспериментальной и контрольной групп использовали при каждой постановке ПЦР.

Выявление региона UTR вируса TTV

Программа амплификации для выявления региона UTR вируса TTV: денатурация 1 цикл – 95 °С, 3 мин; 55 циклов 95 °С – 20 с, 65 °С – 20 с, 72 °С – 20 с; финальная элонгация 1 цикл 72 °С – 2 мин. В результате амплификации получен целевой продукт размером 199 п.н. (электрофореграмма на рис. 2).

Таблица 2

Структура праймеров для выявления ДНК SENV

Название праймера, пробы	Нуклеотидная последовательность	Размер фрагмента, п.н.
SEN-VD-1148F	СТААГСАГСССТАСТСАТССАГААС	193
SEN-VD-1341R	ГСАГТТГАССГСАААГТТАСААГА	
SEN-VH-1020F	ТТТГГСТГСАСТТСТГТТ	118
SEN-VH-1138R	АГАААТГАТГГГТГАТГТТАГГГ	

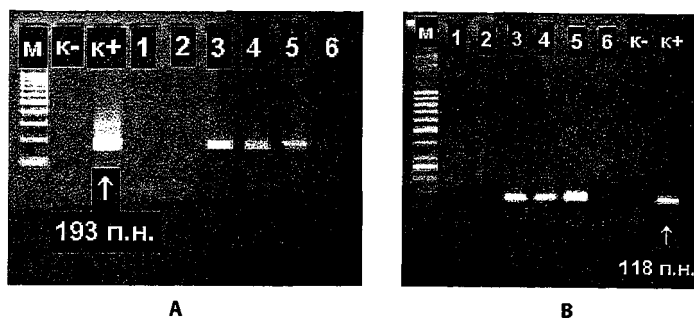


Рис. 3. Электрофоретическая детекция продуктов амплификации с целью выявления ДНК SEN-V-D (А) и ДНК SEN-V-H (В)

Выявление ДНК SENV

Структура праймеров, использованных для выявления двух наиболее значимых генотипов SENV-D и SENV-H, приведена в табл. 2.

Программа амплификации для выявления ДНК SENV: денатурация 1 цикл – 95 °С, 3 мин; 30 циклов 95 °С – 15 с, 61 °С – 15 с, 72 °С – 5 с.

Для детекции продуктов амплификации использовали метод электрофореза в агарозном геле (рис. 3).

Как видно на рис. 3, амплифицируются специфические фрагменты размером 193 п.н. (SEN-V-D) и 118 п.н. (SEN-V-H).

Частота выявления ДНК TTV и SENV у доноров и пациентов с заболеваниями печени приведена в табл. 3. При сравнении частоты выявления ДНК TTV у доноров и пациентов значимых различий выявлено не было ($\chi^2=1,48$; $p=0,223$). ДНК SENV у доноров крови была значимо выше, чем у пациентов ($\chi^2=5,38$; $p=0,021$).

Возраст пациентов в группе с отрицательным результатом обследования на ДНК TTV – 42; 35–59 лет (Me; 25–75%), значимо не отличался от пациентов с выявленным ДНК TTV: 47; 33–60 лет ($p=0,83$, метод Манна – Уитни).

Аналогично возраст пациентов в группе с отрицательным результатом обследования на ДНК SENV – 46,5; 35,5–57 лет, значимо не отличался от пациентов с выявленным ДНК SENV: 43; 32–60 лет ($p=0,79$, метод Манна – Уитни).

Таблица 3

Частота выявления ДНК TTV и SENV у доноров крови и пациентов с заболеваниями печени

Группа	Частота выявления ДНК TTV, %, ДИ	Частота выявления ДНК SENV, %, ДИ
Доноры (n=47)	38,3%; 25,8–52,6	66,0%; 51,6–77,9
Все пациенты (n=138)	48,6%; 40,4–56,8	46,4%; 38,3–56,7
Острый гепатит (n=30)	43,3%; 27,4–60,8	36,7%; 21,8–54,6
Хронический гепатит (n=57)	59,7%; 46,7–71,4	52,6%; 39,9–65,0
Цирроз печени (n=51)	39,2%; 27,0–52,9	45,1%; 32,3–58,6

Таблица 4
Частота выявления ДНК TTV и SENV у пациентов с заболеваниями печени в зависимости от их возраста

Частота выявления	Возрастные группы пациентов		
	≤35 (n=39)	36–55 (n=53)	>55 (n=46)
ДНК TTV	53,9%; 38,6–68,4	41,5%; 29,3–54,9	52,2%; 38,1–65,9
χ^2 ; p	$\chi^2=1,73$; p=0,42		
ДНК SENV	41,0%; 27,1–65,9	50,9%; 37,9–63,9	45,7%; 32,2–59,8
χ^2 ; p	$\chi^2=0,90$; p=0,83		

Проанализирована частота выявления ДНК TTV и SENV у пациентов в различных возрастных группах. Для этого пациенты разделены по возрасту на 3 группы: до 35 лет включительно (39 чел.), 36–55 лет (53 чел.) и старше 55 лет (46 чел.), результаты анализа представлены в табл. 4.

Не было выявлено четкой зависимости частоты выявления ДНК TTV и SENV в зависимости от возрастной группы ($p>0,4$).

Далее проанализирована частота выявления ДНК TTV и SENV раздельно у пациентов с выявленными маркерами парентеральных вирусных гепатитов (ПВГ) В и С (n=66) и с отрицательными результатами обследования на эти маркеры (n=72). В группе пациентов с маркерами ПВГ ДНК TTV выявлена у 38 пациентов (57,6%; 45,6–68,8), а среди пациентов без маркеров ПВГ – у 29 пациентов (40,3%; 29,7–51,8), различия статистически значимы ($\chi^2=4,12$; p=0,042). Рассчитано отношение шансов наличия ДНК TTV у пациентов с наличием маркеров ПВГ, по сравнению с лицами, не имеющими этих маркеров: ОШ=2,01 (95%-й ДИ 1,02–3,97). ДНК SENV выявлена у 34 пациентов с маркерами ПВГ (51,5%; 39,7–63,2) и у 30 пациентов без маркеров ПВГ (41,7%; 31,0–53,2), статистически значимых различий не выявлено ($\chi^2=1,34$; p=0,25). Шансы наличия ДНК SENV в исследованных группах значимо не различались: ОШ=1,49 (95%-й ДИ 0,76–2,91).

■ ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Выбрана и отработана методология по выявлению определенных фрагментов ДНК TTV и SENV, на основе которой получены предварительные результаты по распространенности TTV- и SENV-инфекции среди доноров и пациентов с различными формами парентеральных вирусных гепатитов В, С, гепатитов неуточненной этиологии и циррозами печени.

Частота выявления ДНК TTV у пациентов с заболеваниями печени (48,6%; 40,4–56,8) несколько выше, чем у доноров крови (38,3%; 25,8–52,6), статистически незначимо (p=0,223). ДНК SENV у доноров крови (66,0%; 51,6–77,9) выявлялась значимо чаще, чем у пациентов (46,4%; 38,3–56,7), p=0,021. Не было выявлено различий в частоте выявления ДНК TTV и SENV у пациентов в зависимости от возраста. У пациентов с маркерами парентеральных вирусных гепатитов В и С ДНК TTV выявлялась чаще, чем у пациентов без маркеров ПВГ (57,6% против 40,3%;

$p=0,042$), шансы обнаружения ДНК TTV были в 2 раза выше у пациентов с маркерами ПВГ (ОШ=2,01; 1,02–3,97). Частота выявления ДНК SENV у пациентов сопоставляемых групп значимо не различалась ($p=0,25$). Для продолжения работы необходимо увеличить выборку пациентов, кроме того, возможным направлением работы является подбор альтернативных пар праймеров для увеличения выявляемости ДНК TTV и SENV.

■ ЛИТЕРАТУРА

1. Nishizawa T., Okamoto H., Konishi K. (1997) A novel DNA virus (TTV) associated with elevated transaminase levels in post-transfusion hepatitis of unknown etiology. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, vol. 8, no 241, pp. 92–97.
2. Hino S., Miyata H. (2007) Torque teno virus (TTV): current status. *Rev. Med. Virol.*, vol. 17, no 1, pp. 45–57.
3. Okamoto H., Nishizawa T., Kato N. (1998) Molecular cloning and characterization of a novel DNA virus (TTV) associated with post-transfusion hepatitis of unknown etiology. *Hepatol. Res.*, vol. 10, no 1, pp. 1–16.
4. Peng Y.H., Nishizawa T., Takahashi M. (2002) Analysis of the entire genomes of thirteen TT virus variants classifiable into the fourth and fifth genetic groups, isolated from viremic infants. *Arch. Virol.*, vol. 147, no 1, pp. 21–41.
5. Mankotia D.S., Irshad M. (2014) Cloning and expression of N22 region of Torque Teno virus (TTV) genome and use of peptide in developing immunoassay for TTV antibodies. *Virology Journal* (electronic journal), vol. 11, p. 96. Available at: <https://virologyj.biomedcentral.com/articles/10.1186/1743-422X-11-96.pdf> (accessed 04.02.2017).
6. Chernobrovkina T., Litvinova O., Yankovskaya Ya. (2016) TTV-infektsiya: kliniko-epidemiologicheskie i diagnosticheskie aspekti [TTV infection: clinical-epidemiological and diagnostic aspects]. *Archive of internal medicine (in Russ.)*, vol. 6, no 2, pp. 28–33.
7. Catroxo M.H.B., Nishiya A., Sabino E. (2008) Research of TorqueTeno Virus (TTV) in Serum and Total Blood of Brazilian Non-Human Primates and in Chicken Plasma (*Gallus gallusdomesticus*) by the PCR N22 Region. *Int. J. Morphol.*, vol. 26, no 2, pp. 377–384.
8. Okamoto H., Takahashi M., Nishizawa T. (1999) Marked genomic heterogeneity and frequent mixed infection of TT virus demonstrated by PCR with primers from coding and noncoding regions. *Virology*, vol. 259, no 2, pp. 428–436.
9. Ross R.S., Viazov S., Runde V. (1999) Detection of TT virus DNA in specimens other than blood. *J. Clin. Virol.*, vol. 13, no 3, pp. 181–184.
10. Ukita M., Okamoto H., Kato N. (1999) Excretion into bile of a novel unenveloped DNA virus (TT virus) associated with acute and chronic non A-G hepatitis. *J. Infect. Dis.*, vol. 179, no 5, pp. 1245–1248.
11. Kyuregyan K. (2001) *Epidemiologicheskie aspekti rasprostraneniya TT-virusa* [Epidemiological aspects of TT virus distribution] (PhD thesis), Moscow, 28 p.
12. Abe K., Inami T., Asano K. (1999) TT virus infection is widespread in general populations from different geographic regions. *J. Clin. Microbiol.*, vol. 37, no 8, pp. 2703–2707.
13. Vasilyev E., Trofimov D., Tonevitsky A. (2009) Torque Teno Virus (TTV) distribution in healthy Russian population. *Virology Journal*, vol. 6, pp. 134–138.

14. Matsumoto A., Yeo A.E., Shih J.W. (1999) Transfusion-associated TT virus infection and its relationship to liver disease. *Hepatology*, vol. 30, no 1, pp. 283–288.
15. Desai S.M., Muerhoff A.S., Leary T.P. (1999) Prevalence of TT-virus infection in US blood donors and populations at risk for acquiring parenterally transmitted viruses. *J. Infect. Dis.*, vol. 179, no 5, pp. 1242–1244.
16. Grabarczyk P., Brojer E. (2002) Polymorphism of the TT virus and its frequency in Polish blood donors. *Vox. Sanguinis*, vol. 82, no 2, pp. 177–181.
17. Irving W.L., Ball J.K., Berridge S. (2000) Study of TT virus infection in patients with hepatitis C: frequency and sequence heterogeneity. *J. Infect. Dis.*, vol. 180, no 1, pp. 27–34.
18. Cherednichenko T., Filipova E. (2008) TT-virusnaya infektsiya [TT virus infection]. *Russian Journal of Children's Infection*, vol. 7, no 3, pp. 43–48.
19. Homeriki S., Ilchenko L., Morozov I. (2006) Kliniko-morfologicheskie osobennosti porazheniya pecheni u bolnykh, infitsirovannykh virusom gepatita TT [Clinical and morphological features of liver injury in patients infected with virus TT]. *V mire virusnykh gepatitov*, no 2, pp. 2–8.
20. Tokita H., Murai S., Kamitsukasa H. (2002) High TT-virus load as an independent factor associated with the occurrence of hepatocellular carcinoma among patients with hepatitis C virus-related chronic liver disease. *J. Med. Virology*, vol. 67, no 4, pp. 501–509.
21. Koltuňov A., Alekseenko S., Evseev A. (2013) Kliniko-morfologicheskaya harakteristika hronicheskogo gepatita, assotsiirovannogo s TTV-infektsiei [Clinical and morphological characteristics of chronic hepatitis associated with TTV-infection]. *Far East Medical Journal*, no 3, pp. 12–14.
22. Tanaka Y., Primi D., Wang R.Y. (2001) Genomic and molecular evolutionary analysis of a newly identified infectious agent (SEN virus) and its relationship to the TT virus family. *J. Infect. Dis.*, vol. 183, no 3, pp. 359–367.
23. Sagir A., Kirschberg O., Heintges T. (2004) SEN virus infection. *J. Med. Virol.*, vol. 14, no 3, pp. 141–148.
24. Umemura T., Yeo A.E., Sottini A. (2001) SEN virus infection and its relationship to transfusion-associated hepatitis. *Hepatology*, vol. 33, no 5, pp. 1303–1311.
25. Dai C.Y., Yu M.L., Lin Z.Y. (2004) Prevalence and clinical significance of SEN virus infection among volunteer blood donors in Southern Taiwan. *Digestive Dis. Scien.*, vol. 49, no 7–8, pp. 1181–1185.
26. Kobayashi N., Tanaka E., Umemura T. (2003) Clinical significance of SEN virus infection in patients on maintenance hemodialysis. *Nephrol. Dial. Transplant.*, vol. 18, no 2, pp. 348–352.
27. Loutfy S.A., Hafez M.M., Massoud W.A. (2009) SEN virus infection in Egyptian patients undergoing maintenance hemodialysis: prevalence and clinical importance. *J. Microbiol. Immunol. Infect.*, vol. 42, no 6, pp. 464–470.
28. Umemura T., Tanaka E., Ostapowicz G. (2003) Investigation of SEN virus infection in patients with cryptogenic acute liver failure, hepatitis-associated aplastic anemia, or acute and chronic non-A-E hepatitis. *J. Infect. Dis.*, vol. 188, no 10, pp. 1545–1552.
29. Hosseini S.A., Bouzari M. (2016) Detection of SENV virus in healthy, hepatitis B- and hepatitis C-infected individuals in Yazd Province, Iran. *Iran. Biomed. J.*, vol. 20, no 3, pp. 168–174.
30. Elsherbiny N.M., Hassan E.A., Ahmed A.O. (2015) Does SEN virus (SENV) infection affect the progression of chronic hepatitis C or B among Egyptian patients? *African J. Microbiol. Res.*, vol. 9, no 23, pp. 1504–1512.

Поступила/Received: 16.02.2017
Контакты/Contacts: olga.osipkina@mail.ru