



Молекулярно-генетическая характеристика полноразмерного генома вируса гепатита В у HBsAg-негативных доноров крови в Уральском федеральном округе

Останкова Ю.В.^{1✉}, Серикова Е.Н.¹, Семенов А.В.², Зуева Е.Б.¹, Валутите Д.Э.¹,
Щемелев А.Н.¹, Зурочка В.А.^{3,4}, Тотолян А.А.^{1,5}

¹Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия;

²Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор», Екатеринбург, Россия;

³Институт иммунологии и физиологии Уральского отделения Российской академии наук, Екатеринбург, Россия;

⁴Южно-Уральский государственный университет (национальный исследовательский университет), Челябинск, Россия;

⁵Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия

Аннотация

Актуальность. По оценкам Всемирной организации здравоохранения, на конец 2019 г. более чем у 296 млн человек в мире зарегистрирован хронический вирусный гепатит В (ВГВ). Распространённость HBsAg-негативной, скрытой формы течения заболевания у доноров крови варьирует в зависимости от региона мира и чувствительности используемых методов анализа. Поскольку генетическое разнообразие вирусов демонстрирует пространственно-временные вариации, а генетический профиль изолятов в ключевых группах, потенциально способных становиться источником распространения патогена, важен для прогнозирования эпидемиологической ситуации, представляется значимым определить циркулирующие среди доноров крови в регионах России генотипы ВГВ.

Цель работы — молекулярно-генетическая характеристика геномов ВГВ, выявленных у HBsAg-негативных доноров крови в Уральском федеральном округе.

Материалы и методы. Материалом исследования служили 1400 образцов плазмы, полученных от HBsAg-негативных доноров крови Уральского федерального округа. Исследование включало определение HBsAg, антител анти-HBs IgG, анти-HBcore IgG, ДНК ВГВ. Для всех выявленных образцов проводили секвенирование и анализ нуклеотидных последовательностей полных геномов ВГВ.

Результаты. Распространённость ДНК ВГВ составила 4,93%, в том числе 4 (0,28%) случая ложного скрытого гепатита В. Среди анти-HBcore IgG-положительных образцов ДНК ВГВ обнаружили в 18,08% случаев, в то время как у лиц с выявленной ДНК ВГВ анти-HBcore IgG — в 46,38%. У 8,69% изолятов обнаружены одновременно антитела анти-HBs IgG и ДНК вируса при отсутствии анти-HBcore IgG. На основании филогенетического анализа показано, что у HBsAg-негативных доноров крови представлены субгенотипы ВГВ в следующих соотношениях: D3 — 53,62%, D2 — 21,74%, D1 — 18,84%, C2 — 5,8%. Показана высокая вариабельность регионов S, C, P генома вируса в обследованной группе. Во всех выявленных нами случаях HBsAg-негативного хронического ВГВ у доноров крови были представлены вирусы, по крайней мере, с одной аминокислотной заменой в положениях, мутации в которых действуют как ускользающие от вакцины. В регионе обратной транскриптазы гена P в 3 (4,35%) случаях определены мутации устойчивости вируса к лекарственным препаратам: ламивудину, телбивудину, энтекавиру. В регионах preCore/Core выявлены мутации, способствующие прогрессированию заболевания печени.

Заключение. Скрытый, HBsAg-негативный хронический ВГВ представляет собой угрозу передачи ВГВ при переливании крови и её компонентов за счёт крайне низкой вирусной нагрузки, не позволяющей определить вирус с помощью рутинно используемых диагностических наборов. Ситуацию может усугубить выявленное нами обилие и разнообразие аминокислотных замен вируса, включающих мутации иммунологического избегания, мутации фармакорезистентности и мутации, способствующие прогрессированию развития заболевания.

Ключевые слова: вирус гепатита В, скрытый гепатит В, серологические маркеры, молекулярно-биологические маркеры, вариабельность ВГВ, генотипы, клинически значимые мутации, лабораторная диагностика

Этическое утверждение. Исследование проводилось при добровольном информированном согласии пациентов. Протокол исследования одобрен Этическим комитетом Санкт-Петербургского НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера (протоколы № 67 от 22.02.2017 и № 97 от 29.01.2020).

Источник финансирования. Авторы заявляют об отсутствии внешнего финансирования при проведении исследования.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Для цитирования: Останкова Ю.В., Серикова Е.Н., Семенов А.В., Зуева Е.Б., Валутите Д.Э., Щемелев А.Н., Зурочка В.А., Тотолян А.А. Молекулярно-генетическая характеристика полноразмерного генома вируса гепатита В у HBsAg-негативных доноров крови в Уральском федеральном округе. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2022;99(6):637–650.

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-325>

Original article

<https://doi.org/10.36233/0372-9311-325>

Molecular and genetic characterization of the hepatitis B virus full-length genome sequences identified in HBsAg-negative blood donors in Ural Federal District

Yulia V. Ostankova¹✉, Elena N. Serikova¹, Aleksandr V. Semenov², Elena B. Zueva¹, Diana E. Valutite¹, Aleksandr N. Schemelev¹, Vladimir A. Zurochka^{3,4}, Areg A. Totolian^{1,5}

¹St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russia;

²State Research Center of Virology and Biotechnology «Vector», Ekaterinburg, Russia;

³Institute of Immunology and Physiology, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Ekaterinburg, Russia;

⁴South-Ural State University (National Research University), Chelyabinsk, Russia;

⁵I.P. Pavlov First St. Petersburg State Medical University, St. Petersburg, Russia

Abstract

Introduction. The World Health Organization estimates that as of 2019, more than 296 million people were living with chronic hepatitis B virus (HBV) infection. The prevalence of HBsAg-negative, occult form of the disease in blood donors varies depending on the region of the world and the sensitivity of the methods of analysis used. Considering that the genetic diversity of viruses demonstrates space and time variations and taking into account that the genetic profile of isolates in key groups, which may turn into a source of the pathogen spread, is important for forecasting of the epidemiological situation, the attention should be given to identification of HBV genotypes currently circulating among regular blood donors in regions of the Russian Federation.

The **aim** of this work was molecular and genetic characterization of HBV genomes identified in HBsAg-negative blood donors in the Ural Federal District.

Materials and methods. The study material was 1400 plasma samples obtained from HBsAg-negative blood donors in Ural Federal District. The study included the testing for HBsAg, anti-HBs IgG and anti-HBcore IgG antibodies, HBV DNA. For all identified HBV DNA containing samples, sequencing and analysis of the nucleotide sequences of the complete HBV genomes were performed.

Results. The prevalence of HBV DNA was 4.93%, including 4 (0.28%) cases of false occult hepatitis B. Among anti-HBcore IgG-positive samples, HBV DNA was found in 18.08% of cases, while in persons with detected HBV DNA the anti-HBcore IgG positivity rate was 46.38%. In 8.69% of the isolates, anti-HBs IgG antibodies and viral DNA were detected simultaneously in the absence of anti-HBcore IgG. Based on phylogenetic analysis, HBV subgenotypes distribution in HBsAg-negative blood donors was as follows: D3 — 53.62%, D2 — 21.74%, D1 — 18.84%, C2 — 5.8%. The high variability in the S, C, P regions of the virus genome in the examined group was shown. In all cases of HBsAg-negative chronic HBV infection identified in blood donors, viral sequences contained at least one amino acid substitution in positions, mutations in which are associated with immune escape. In 3 (4.35%) cases mutations in reverse transcriptase region of P gene that are associated with resistance to the following drugs were identified: lamivudine, telbivudine, entecavir. Mutations in the preCore/Core regions that contribute to the progression of liver disease were also identified.

Conclusion. Occult HBsAg-negative chronic HBV infection poses a threat of HBV transmission through transfusion of blood and its components due to the extremely low viral load, which does not allow the virus to be detected using routinely used diagnostic kits. The situation can be exacerbated by the abundance and diversity of virus amino acid substitutions that we have identified, including immune escape mutations, drug resistance mutations, and mutations that contribute to the progression of the disease.

Keywords: hepatitis B virus, occult hepatitis B, serological markers, molecular biological markers, HBV variability, genotypes, clinically significant mutations, laboratory diagnostics

Ethics approval. The study was conducted with the informed consent of the patients. The research protocol was approved by the Ethics Committee of the St. Petersburg Pasteur Institute (protocols No. 67, February 22, 2017 and No. 97, January 29, 2020).

Funding source. This study was not supported by any external sources of funding.

Conflict of interest. The authors declare no apparent or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

For citation: Ostankova Yu.V., Serikova E.N., Semenov A.V., Zueva E.B., Valutite D.E., Schemelev A.N., Zurochka V.A., Totolian A.A. Molecular and genetic characterization of the hepatitis B virus full-length genome sequences identified in HBsAg-negative blood donors in Ural Federal District. *Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology = Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii*. 2022;99(6):637–650.
DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-325>

Введение

Вирус гепатита В (ВГВ) — ДНК-содержащий гемоконтактный патоген, способный вызывать как острое, так и хроническое заболевание печени, приводящее к развитию цирроза и гепатоцеллюлярной карциномы (ГЦК). По оценкам Всемирной организации здравоохранения, на конец 2019 г. более чем у 296 млн человек в мире зарегистрирован хронический вирусный гепатит В (ХВГВ), смертность от связанных с инфекцией ВГВ случаев за год превысила 820 тыс. человек, однако осведомлены о своем заболевании были только 10,5% инфицированных¹.

Частично двуцепочечный кольцевой геном вируса протяжённостью приблизительно 3200 нуклеотидов (нт) представлен генами *S*, *P*, *C* и *X*, кодирующими, за счёт перекрывающихся открытых рамок считывания, 7 белков.

Благодаря наличию в жизненном цикле РНК-стадии и отсутствию 3'-5'-экзонуклеазной активности обратной транскриптазы, что лишает вирус возможности корректировки генома, а также высокой скорости изменчивости, ВГВ характеризуется значительной генетической гетерогенностью [1]. Классифицируют ВГВ на основе дивергенции нуклеотидных последовательностей полного генома. В настоящее время описаны 9 генотипов (A–I), расхождение которых превышает 8%, и почти 50 субгенотипов, отличающихся друг от друга на 4,0–7,5% [2, 3]. Высокая степень генетической изменчивости позволяет вирусу реагировать на эндогенное и экзогенное селективное давление путём активной модификации структуры своего генома, что приводит к большому количеству естественно возникающих мутаций, часть из которых имеет клиническое значение. Так, в области гена *S* нередко выявляют аминокислотные замены в положениях 123, 126, 129, 130, 133, 144, 145 и 181, приводящие к ускользанию от иммунного ответа и/или к неэффективности диагностических тестов на HBsAg, а мутации в гене *P*, частично пересекающемся с геном *S*, способствуют устойчивости вируса к лекарственной терапии [4, 5]. Для региона гена *C* описаны мутации в промоторе *T1753C*, *A1762T/G1764A*, а также *F24Y*, *E64D*, *E77Q*, *A80I/T/V*, *L116I*, *E180A*, ассоциированные с прогрессированием заболевания печени и ГЦК [6].

Характеристика генотипических и мутационных профилей ВГВ в ключевых потенциально способствующих распространению вируса группах населения эпидемиологически значима для оценки моделей, путей передачи ВГВ, а также внедрения в популяцию импортированных штаммов [7]. Одной из таких ключевых групп являются доноры крови. Переливание крови и её продуктов играет важную роль в терапии тяжёлых состояний различного генеза, ежегодно спасая миллионы жизней во всем мире, однако трансфузиологические манипуляции при отсутствии достаточного контроля безопасности материала могут становиться источником инфицирования реципиентов гемоконтактными патогенами, включая вирус иммунодефицита человека (ВИЧ), ВГВ и вирус гепатита С (ВГС).

В России, как и во многих странах, на протяжении многих лет основным диагностическим инструментом для выявления острой или хронической инфекции было определение поверхностного антигена ВГВ (HBsAg) серологическими методами; в случае получения сомнительных результатов по HBsAg дополнительно определяют антитела к ядерному антигену анти-HBscore IgG. В настоящее время в протокол обследования доноров входят молекулярно-биологические исследования для идентификации ДНК вируса, однако при этом допускается проведение анализа в миниупле (не более чем из 6 образцов) при чувствительности используемых наборов реагентов 100 МЕ/мл².

Несмотря на принятые меры в области инфекционной безопасности донорства крови, остаточный риск трансфузионной передачи ВГВ сохраняется³. Связано это, помимо случаев серонегативного окна после недавнего заражения, с двумя особенностями ВГВ. Во-первых, в то время как для заражения ВИЧ и ВГС необходима высокая вирусная нагрузка патогенов, инфекционная доза ВГВ составляет 16

¹ ВОЗ. Гепатит В. Основные факты. URL: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/hepatitis-b>

² Приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации от 28.10.2020 № 1166н «Об утверждении порядка прохождения донорами медицинского обследования и перечня медицинских противопоказаний (временных и постоянных) для сдачи крови и (или) ее компонентов и сроков отвода, которому подлежит лицо при наличии временных медицинских показаний, от донорства крови и (или) ее компонентов». URL: <http://publication.pravo.gov.ru/Document/View/0001202011260032>

³ WHO. Global hepatitis report 2017: executive summary; 2017. URL: <https://www.who.int/publications/i/item/global-hepatitis-report-2017>

копий (3 МЕ/мл), независимо от объёма переливаемой плазмы/компонентов крови [8]. Во-вторых, естественной формой течения ХВГВ является так называемый скрытый ВГВ (скВГВ), определяемый наличием способной к репликации ДНК вируса в тканях печени (эписомальной ковалентно замкнутой кольцевой ДНК) и/или в крови при отрицательном результате теста на HBsAg. Серопозитивный вариант скВГВ сопровождается наличием иных маркеров ХВГВ, в первую очередь антителами анти-HBcore, а при серонегативном могут полностью отсутствовать любые маркеры. Кроме того, преобладающая в большинстве таких случаев крайне низкая вирусная нагрузка усложняет задачу выявления ДНК ВГВ методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) [9]. В условиях переливания крови желательнее применять модификации ПЦР с чувствительностью 10 МЕ/мл и ниже, проводя индивидуальное тестирование образцов. Анализ с использованием минипулов, т.е. смеси 6–10 донаций, что нередко применяется для удешевления скрининга, приводит к снижению чувствительности в соответствии с коэффициентом разбавления, не позволяя выявлять случаи с низкой вирусной нагрузкой. При математическом моделировании рассчитанная оценка остаточного риска ВГВ варьирует от < 1 до 1,4 на 1 млн донаций в странах с низкой эндемичностью ВГВ и от 16 до > 100 в странах с высокой эндемичностью [10].

Исследования распространённости скВГВ среди доноров крови долгое время были немногочисленны, однако в последние годы появляется всё больше публикаций, посвящённых этой проблеме. Встречаемость этой формы ХВГВ среди доноров крови в разных странах варьирует в зависимости от представленности HBsAg в географическом регионе. Так, среди доноров крови в Аргентине ВГВ был выявлен только в 0,06% образцов, из них только 4 образца были HBsAg-негативными. Напротив, в Лаосской Народно-Демократической Республике и Нигерии распространённость скВГВ составила 10,9 и 17% соответственно [11, 12]. В то же время зарегистрированная распространённость скВГВ среди доноров крови нередко колеблется в пределах одного и того же региона, а результаты разных исследовательских коллективов противоречивы. Например, в Иране встречаемость HBsAg у населения и у доноров крови составляет 2,6 и 0,4%, соответственно, при этом распространённость скВГВ среди доноров превышает 4% [13–15]. Таким образом, данные в целом варьируют в зависимости не только от региона, но и от методов определения вируса, включая разнообразие коммерческих наборов для выявления HBsAg и ДНК ВГВ.

Поскольку генетическое разнообразие вирусов демонстрирует пространственно-временные вариации, а генетический профиль изолятов в ключевых группах, потенциально способных становиться

источником распространения патогена, важен для прогнозирования эпидемиологической ситуации, представляется значимым определить циркулирующие в настоящее время генотипы ВГВ среди регулярных доноров крови в регионах Российской Федерации.

Целью нашей работы было дать молекулярно-генетическую характеристику геномов ВГВ, выявленных у HBsAg-негативных доноров крови в Уральском федеральном округе.

Материалы и методы

В работе были использованы 1400 образцов плазмы донорской крови, полученных в 2020 г. от HBsAg-негативных регулярных доноров крови Уральского федерального округа. Все обследованные дали письменное информированное согласие на участие в исследовании. На проведение данного исследования было получено одобрение локального этического комитета Санкт-Петербургского НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера (протоколы № 67 от 22.02.2017 и № 97 от 29.01.2020). Непосредственно в медицинских учреждениях, осуществлявших сбор и банкирование крови и её элементов, образец от каждой донации исследовали на маркеры 4 гемотрансмиссивных инфекций: ВИЧ (антиген р24 ВИЧ-1, антитела к ВИЧ-1/2), ВГВ (HBsAg, ДНК ВГВ в минипулах), ВГС (антитела к ВГС, РНК ВГС в минипулах), сифилис (антитела класса М и G к бледной трепонеме). В Санкт-Петербургском НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера исследование поступившей плазмы на наличие серологических маркеров ХВГВ методом иммуноферментного анализа заключалось в качественном определении HBsAg, антител анти-HBs IgG, анти-HBcore IgG. Анализы проводили в 2 повторах с использованием коммерческих наборов «ДС-ИФА-HBsAg», «ДС-ИФА-АНТИ-HBsAg», «ДС-ИФА-АНТИ-HBc» (НПО «Диагностические системы») и «Вектогеп В-HBs-антиген», «ВектоHBsAg-антитела», «ГепаБест анти-HBc-IgG» (АО «Вектор-Бест») согласно инструкциям производителя. Для определения HBsAg использовали наборы реагентов с чувствительностью 0,05 и 0,01 МЕ/мл.

Экстракцию ДНК ВГВ осуществляли с использованием коммерческого набора «РИБО-преп» (ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора). Предварительно для всех образцов проводили концентрирование вирусных частиц ультрацентрифугированием плазмы крови в течение 1 ч при 24 000g и 4°C.

Для первичного выявления ВГВ методом ПЦР с гибридизационно-флуоресцентной детекцией в режиме «реального времени» применяли коммерческий диагностический набор реагентов «АмплиСенс® HBV-FL» (ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора) согласно инструкции. Чувствительность набора реагентов составляет 50 МЕ/мл.

Таблица 1. Распространённость и распределение серологических маркеров ВГВ в обследованной группе, *n* (%; 95% ДИ)
Table 1. Prevalence and distribution of the hepatitis B serological markers in the examined group, *n* (%; 95% CI)

Выявленные серологические маркеры в плазме крови Detected serological markers in blood plasma	Численность в группе Number in the group (<i>n</i> = 1400)	Численность в группе среди мужчин Number in the group among men (<i>n</i> = 936)	Численность в группе среди женщин Number in the group among women (<i>n</i> = 464)
Распространённость серологических маркеров Prevalence of the hepatitis B serological markers			
HBs IgG+	947 (67,64; 65,12–70,09)	631 (67,41; 64,31–70,41)	316 (68,1; 63,65–72,32)
HBcore IgG+	172 (12,29; 10,61–14,12)	137 (14,64; 12,43–17,07)	40 (8,62; 6,23–11,55)
Серопозитивные Seropositive	1018 (72,71; 70,3–75,03)	690 (73,72; 70,77–76,51)	328 (70,69; 66,32–74,8)
Серонегативные Seronegative	382 (27,29; 24,97–29,7)	246 (26,28; 23,49–29,23)	136 (29,31; 25,2–33,68)
Распределение серологических маркеров Distribution of serological markers			
HBcore IgG+, HBs IgG+	101 (7,21; 5,91–8,79)	73 (7,8; 6,16–9,71)	28 (6,03; 4,05–8,6)
HBcore IgG+ изолированные isolated	71 (5,07; 3,98–6,35)	59 (6,3; 4,83–8,06)	12 (2,59; 1,34–4,47)
HBs IgG+ изолированные isolated	846 (60,43; 57,81–63,00)	558 (59,62; 56,39–62,78)	288 (62,07; 57,48–66,5)

Дальнейшее определение ДНК ВГВ проводили с использованием разработанной в Санкт-Петербургском НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера методики, позволяющей выявлять ДНК ВГВ в биологическом материале при низкой вирусной нагрузке (чувствительность составляет 5 МЕ/мл), в том числе при HBsAg-негативном ХВГВ [16]. Для всех выявленных образцов проводили секвенирование и последующий анализ нуклеотидных последовательностей полных геномов ВГВ, как описано ранее [17].

Первичный анализ полученных в ходе секвенирования фрагментов осуществляли с помощью программы NCBI Blast в сравнении с нуклеотидными последовательностями, представленными в международной базе данных GenBank. Выравнивание нуклеотидных последовательностей проводили в программе MEGA11, используя алгоритм ClustalW [18]. Для построения филогенетических деревьев и последующего филогенетического анализа рассматривали расстояния между последовательностями методом присоединения соседей, позволяющим оптимизацию дерева в соответствии с критерием «сбалансированной минимальной эволюции» (neighbor-joining), для оценки достоверности построенных деревьев проведён бутстреп (bootstrap) для 1000 повторов.

Серологический подтип ВГВ определяли на основе аминокислотной последовательности HBsAg.

Полученные последовательности ВГВ также были проанализированы для определения их генотипов и оценки возможной лекарственной устойчивости и мутаций, ускользающих от иммунитета, с использованием 3 онлайн-инструментов базы данных Geno2Pheno HBV⁴, программы HBVseq⁵

из базы данных HIV Stanford, инструмента HIV-GRADE HBV⁶.

Статистическую обработку данных производили с помощью пакета программ «MS Excel», «Prizm 5.0» («GraphPad Software Inc.»). При оценке статистической погрешности использовали «точный» интервал Клоппера–Пирсона. Результаты представлены с указанием 95% доверительного интервала (ДИ). Для оценки достоверности различий численных данных, полученных при парных сравнениях, использовали, в зависимости от характеристик выборок, точный критерий Фишера или критерий χ^2 с поправкой Йетса. В качестве порога достоверности отличий было определено значение вероятности $p < 0,05$.

Результаты

Возраст доноров крови в группе варьировал от 18 лет до 61 года и в среднем составил $33,5 \pm 8,7$ года. Количество мужчин в обследуемой группе преобладало по сравнению с женщинами — 66,85 и 33,14% соответственно.

Распространённость серологических маркеров в группе составила 72,71% (95% ДИ 70,30–75,03%). Не выявлено различий в общей распространённости маркеров ВГВ у мужчин (73,72%; 95% ДИ 70,77–76,51%) и женщин (70,69%; 95% ДИ 66,32–74,8%). Результат анализа распространённости и распределения исследованных маркеров ВГВ в обследованной группе представлен в табл. 1.

Таким образом, серологические маркеры ХВГВ в целом представлены у мужчин и женщин в равной степени, однако антитела анти-HBcore IgG чаще выявляли у мужчин по сравнению с женщинами ($\chi^2 = 10,166$; $p = 0,0014$; df (число степеней свободы) = 1). При оценке распределения маркеров изолированные антитела анти-HBcore IgG также

⁴ URL: <https://hbv.geno2pheno.org>

⁵ URL: <https://hivdb.stanford.edu/HBV/HBVseq/development/HBVseq.html>

⁶ URL: <https://www.hiv-grade.de/cms/grade/explanations/hbv-tool>

чаще выявляли у мужчин, чем у женщин ($\chi^2 = 8,904$; $p = 0,0028$; $df = 1$).

В пределах серопозитивной группы мужчин (67,78%; 95% ДИ 64,81–70,64%) больше, чем женщин (32,22%; 95% ДИ 29,36–35,19%). Результат анализа распространённости и распределения исследованных маркеров ВГВ в группе серопозитивных лиц представлен в **табл. 2**.

При оценке распространённости серологических маркеров по возрастным группам выявлено, что среди ВГВ-серопозитивных лиц 9,14% (95% ДИ 7,44–11,07%) — люди в возрасте 18–22 лет, 55,89% (95% ДИ 52,78–58,97%) — 23–40 лет и 34,97% (95% ДИ 32,04–37,99%) — старше 40 лет.

При использовании молекулярно-биологических методов ДНК ВГВ выявлена у 4,93% (95% ДИ 3,85–6,20%) доноров крови. Среди анти-НВcore IgG-позитивных образцов ДНК ВГВ обнаружили в 18,08% (95% ДИ 12,71–24,55%) образцов, в то время как у лиц с выявленной ДНК ВГВ анти-НВcore IgG — в 46,38% (95% ДИ 34,28–58,8%). Определены 8,69% (95% ДИ 3,26–17,97%) изолятов, у которых обнаруживали одновременно антитела анти-НВs IgG и ДНК вируса при отсутствии анти-НВcore IgG. Подчеркнём, что, несмотря на значимое преобладание мужчин в группе доноров крови и среди лиц с выявленной ДНК ВГВ (75,36%; 95% ДИ 63,51–84,94%), представленность скВГВ среди мужчин (5,56%; 95% ДИ 4,18–7,22%) преобладала по сравнению с женщинами (3,66%; 95% ДИ 2,15–5,8%) незначительно, достоверных отличий не установлено ($p = 0,1488$).

Вирусная нагрузка в большинстве образцов (94,2%) составила менее 50 МЕ/мл, однако в 4 случаях достигала 10^5 МЕ/мл.

Нуклеотидные последовательности полных геномов выявленных изолятов ВГВ депонированы в международную базу данных GenBank под номерами OR153940–OR154008.

На основании филогенетического анализа 69 изолятов показано, что в обследованной груп-

пе преобладал ВГВ генотипа D (94,2%; 95% ДИ 85,82–98,4%), в 4 случаях выявлен генотип C (5,8%; 95% ДИ 1,60–14,18%). При этом среди пациентов с ВГВ генотипа D наиболее высокая частота встречаемости определена для субгенотипа D3 (56,92%) по сравнению с субгенотипами D2 (23,08%) и D1 (20%). Таким образом, среди 69 образцов у НВsAg-негативных доноров крови представлены субгенотипы ВГВ в следующих соотношениях: D3 — 53,62%, D2 — 21,74%, D1 — 18,84%, C2 — 5,8% (**рисунок**).

При определении серологического подтипа обнаруженных изолятов преобладал серотип ауw2 (73,91%; 95% ДИ 61,94–83,75%), в меньшей степени представлены серотипы ауw3 (14,49%; 95% ДИ 7,18–25,14%), адw3 и адr — по 5,8% (95% ДИ 1,60–14,18%). При этом серотип ауw2 установлен для всех изолятов субгенотипа D1 и для большинства D2 и D3, ауw3 также указан для D2 и D3, адw3 определён только для ВГВ субгенотипа D2, адr для C2.

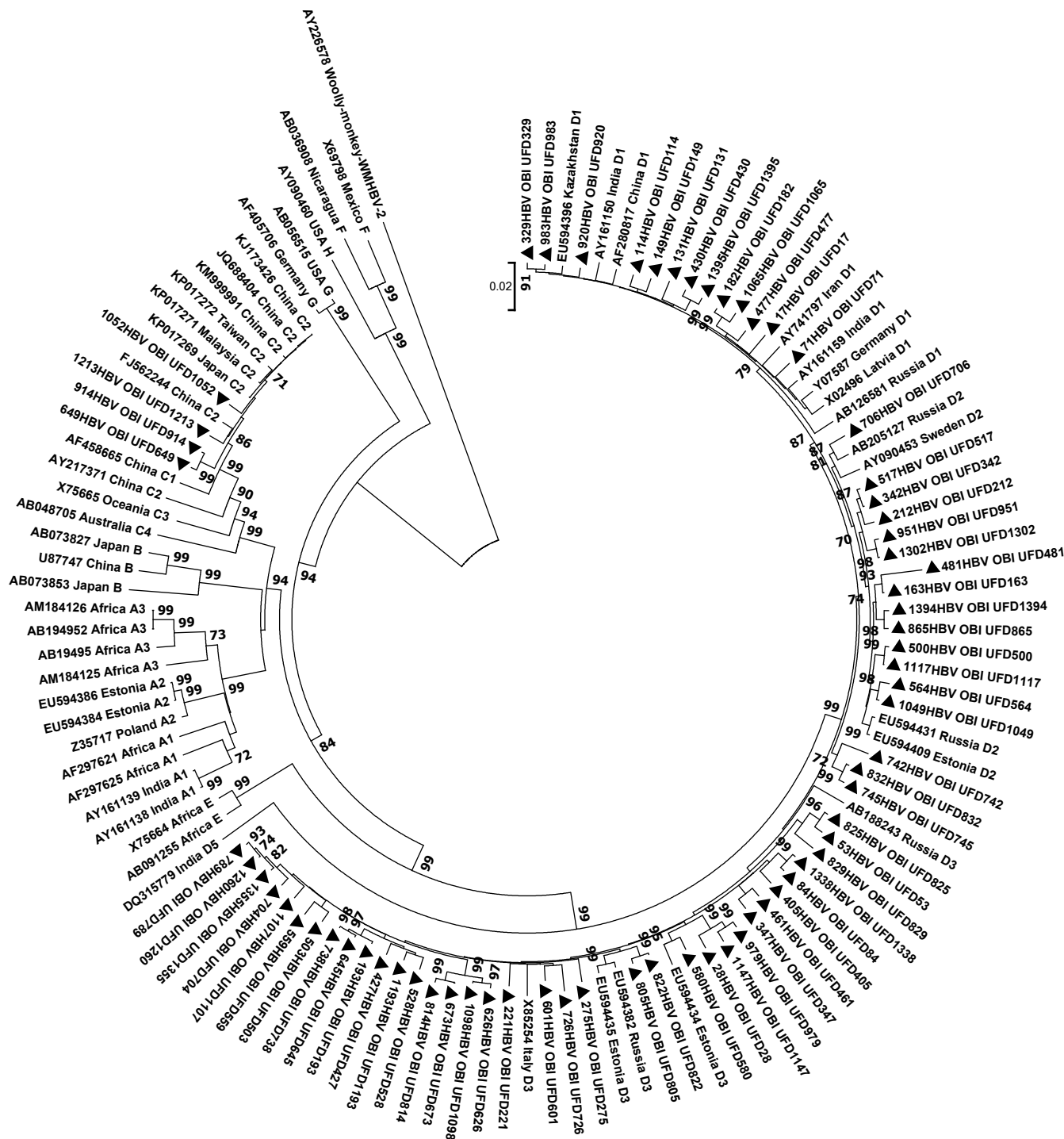
Несмотря на то что в большинстве случаев нуклеотидные последовательности ВГВ при скрытой форме ХВГВ не имеют отличий от таковых при НВsAg-позитивном заболевании и определяются как «дикий тип», в обследуемой группе доноров выявлен ряд естественных полиморфных вариантов вируса в регионах генома всех изолятов, в том числе аминокислотные замены показаны для 100% образцов ВГВ в регионах RT, SHB, MNB, LNB и Core, а также для 71,01% в регионе preCore.

Для изучения мутаций, влияющих на антигенность НВsAg, проанализирован регион главной гидрофильной области (Major Hydrophilic Region — MHR) и регион детерминанты «а», представляющей собой кластер основных эпитопов В-клеток, расположенных между 124 и 147 (или 149) аминокислотными остатками. Показано наличие аминокислотных замен в 22 позициях из 144, что составило 15,28% (95% ДИ 9,83–22,21%). Выявили следующие полиморфные варианты: Y100S/L, Q101R/H, G102R, L109Q/L, I110L, G112E, T113S,

Таблица 2. Распространённость и распределение серологических маркеров ВГВ среди серопозитивных лиц, n (%; 95% ДИ)

Table 2. Prevalence and distribution of the hepatitis B serological markers among seropositive individuals, n (%; 95% CI)

Выявленные серологические маркеры в плазме крови Detected serological markers in blood plasma	Численность в серопозитивной группе Number in the seropositive group ($n = 1018$)	Численность в серопозитивной группе среди мужчин Number in the seropositive group among men ($n = 690$)	Численность в серопозитивной группе среди женщин Number in the seropositive group among women ($n = 328$)
Распространённость серологических маркеров Prevalence of the hepatitis B serological markers			
НВs IgG+	947 (93,03; 91,28–94,51)	631 (91,45; 89,11–93,43)	316 (96,34; 93,7–98,1)
НВcore IgG+	172 (16,9; 14,64–19,34)	137 (19,86; 16,94–23,03)	40 (12,19; 8,86–16,23)
Распределение серологических маркеров Distribution of serological markers			
НВcore IgG+, НВs IgG+	101 (9,92; 8,15–11,92)	73 (10,58; 8,38–13,12)	28 (8,54; 5,75–12,10)
НВcore IgG+ изолированные isolated	71 (6,97; 5,49–8,72)	59 (8,55; 6,57–10,89)	12 (3,66; 1,9–6,3)
НВs IgG+ изолированные isolated	846 (83,1; 80,66–85,36)	558 (80,87; 77,73–83,74)	288 (87,8; 83,77–91,14)



Филогенетический анализ нуклеотидных последовательностей полных геномов ВГВ, выделенных от доноров крови в сравнении с представленными в международной базе данных GenBank референсными последовательностями. Референсные последовательности обозначены кодами GenBank с указанием генотипа и региона происхождения образца. Как внешняя группа использована нуклеотидная последовательность ВГВ шерстистой обезьяны AY226578. Исследованные в настоящей работе образцы обозначены чёрными треугольниками. Для построения филогенетического дерева использовали алгоритм присоединения соседей (neighbor-joining). Даны значения bootstrap ≥ 60 .

Phylogenetic analysis of the HBV complete genomic nucleotide sequences from blood donors compared to reference sequences from the GenBank international database.

The reference sequences have the assigned GenBank codes showing the genotype and the region of the sample. Nucleotide sequence AY226578 of woolly monkey HBV was used as an out-group. The studied samples are marked with black triangles. The phylogenetic tree was constructed using the neighbor-joining method. Bootstrap values ≥ 60 are used.

T114S, T118V/A, P120S, K122R, T125M, T127P, A128V, N131T, S132Y, F134Y, A159G, Y161F, V168A. Во всех изолятах ВГВ генотипа С в указанном регионе определены замены, не обнаруженные среди изолятов генотипа D: *T126I, K160R.*

В регионе обратной транскриптазы гена *P* также выявлен ряд полиморфных вариантов: *A7V, E11G, H12L, I16T, A21S, A38G/E, R41G, Q48E, Y54H/N/D, V63I/C/G, N71K, L72R, N76T/G, S85C/L, F88S, Y89*/L, H90S, L91I, H94D, A97G, H100D, S105C, Y111N, S117Y, N118T, F122L, H124Y/N/H, H126R, T128I/N/T/A, M129L, Q130P, D134N, Y135S, N139D, L145M, K154Q, L164M, R167G, L180M, T184A, I187L, M204V, S213T, V214A, H216Q, L229F, A223S, N248H, C256S, Y257H, D263E/A, I266V/R, Q267H/L, E271D, V278I, I282V, L293H, F300L, M309K, S317A/F/S, K318R, A329T, N337T.* При этом у большинства обследуемых (21,74%; 95% ДИ 23,71–33,31%) показаны по 7 мутаций в RT-регионе, у 15,94% (95% ДИ 8,24–26,74%) — по 6 мутаций, у 11,59% (95% ДИ 5,14–21,57%) — по 10 и более мутаций, у 11,59% (95% ДИ 5,14–21,57%) — по 8 мутаций, у 10,14% (95% ДИ 4,18–19,79%) — по 3 и 4 мутации, у 8,7% (95% ДИ 3,26–17,97%) — по 5 мутаций, у 7,25% (95% ДИ 2,39–16,11%) — по 9 мутаций. В 3 случаях (4,35%; 95% ДИ 0,91–12,18%) были определены мутации устойчивости вируса к лекарственным препаратам (табл. 3).

При анализе *preCore*-региона выявляли полиморфные варианты *W28L/S, G29D/A.* Частота встречаемости *W28L/S* составила 13,04% (95% ДИ 6,14–23,32%), *G29D/A* — 23,19% (95% ДИ 13,87–34,91%), 2 мутаций одновременно — 5,8% (95% ДИ 1,60–14,18%).

Непосредственно в регионе *Core* определены 39 позиций, в которых происходили аминокислотные замены: *T12S, S21T/H/A/Q, F24Y, V27I, D29Q, A34T, E40D/Q, A41P, P45H, L55I, E64D, M66L/R, T67N/S, A69V/S, N74G/V, E77D, P79Q, A80I/T, N87S,*

N92H, I97F/L, I105V, T109S, E113Q/D, L116V/I, P130A, A131T, P135Q, N136D, T142L, L143I, T147A, V149I, R151P, D153, R154*, S157T, Q179K, S183P.*

Обсуждение

В 2016–2017 гг. в России зарегистрировано 2643 случая острого ВГВ (ОВГВ) — 0,915 на 100 тыс. населения, что отражает снижение заболеваемости за последние 5 лет в 1,6 раза. Распределение частоты заболеваемости в субъектах страны неравномерно, варьирует от 0–0,54 до 0,86–3,79 на 100 тыс. населения. Однако продолжает регистрироваться достаточно высокая заболеваемость впервые выявленным ХВГВ — приблизительно 21,045 случая на 100 тыс. населения с учётом больных ХВГВ и пациентов, которых ранее обозначали как «носители ВГВ». Такое противоречие в заболеваемости ОВГВ и ХВГВ связано, по всей видимости, с несколькими факторами. Прежде всего, инфицирование ВГВ преимущественно происходит бессимптомно, т.е. выявленные случаи острого течения заболевания составляют лишь некий процент от реального уровня частоты заражения. Второй причиной остается сравнительно низкая информированность населения и ограниченная доступность сложных молекулярно-генетических методов диагностики, в результате чего новые случаи ХВГВ выявляют либо случайно, например, при общей диспансеризации, либо при обращении к врачам пациентов с выраженными клиническими симптомами серьёзных стадий заболевания. Очевидно, что такие обнаруженные новые случаи фактически не являются новыми, а также составляют лишь некоторую долю от истинно больных ХВГВ. Уральский федеральный округ относится к регионам с самой высокой заболеваемостью ОВГВ — 0,86–3,79 на 100 тыс. населения и с крайне вариабельной заболеваемостью ХВГВ: от 0,26–7,66 в Курганской, Свердловской и Тюменской областях до 11,63–61,72

Таблица 3. Мутации лекарственной устойчивости, выявленные в обследуемой группе

Table 3. Drug resistance mutations identified in the study group

Изолят Isolate	Генотип Subgenotype	Мутация Mutation	Описание Description
HBV_OBI_UFD53	D1	<i>M204V</i>	Резистентность к ламивудину, телбивудину, частичная резистентность к энтекавиру Resistance to lamivudine, telbivudine, partial resistance to entecavir
HBV_OBI_UFD1147	D2	<i>L180M</i>	Ограниченная чувствительность к ламивудину Limited sensitivity to lamivudine
		<i>T184A, L180M</i>	Компенсаторная мутация при резистентности к энтекавиру Compensatory mutation in entecavir resistance
HBV_OBI_UFD829	D2	<i>L180M, M204V</i>	Резистентность к ламивудину Resistance to lamivudine
		<i>M204V</i>	Резистентность к телбивудину Resistance to telbivudine
		<i>T184A, L180M, M204V</i>	Резистентность к энтекавиру Resistance to entecavir

в Ямало-Ненецком автономном округе [19]. В связи с вышесказанным Уральский федеральный округ был выбран в качестве одного из первых регионов для пилотного исследования распространённости скВГВ среди доноров крови в России.

Отсутствие HBsAg в обследуемой группе соответствует информации, полученной от медицинских учреждений, предоставивших биологический материал. Высокий уровень анти-HBs IgG связан, по всей видимости, с вакцинацией против вируса. Выявленные случаи сочетания анти-HBs IgG и анти-HBcore IgG свидетельствуют о том, что 7,21% доноров сохраняли определяемые уровни нейтрализующих антител после заражения и естественного выздоровления. Преобладание мужчин среди серопозитивных лиц связано, видимо, с общим преобладанием мужчин в обследуемой группе, что подтверждает сходство распространённости маркеров ХВГВ среди мужчин и женщин. Более низкая встречаемость анти-HBcore IgG у женщин по сравнению с мужчинами может свидетельствовать о сравнительно менее рисковом поведении представительниц этой когорты, а значит, и меньшей вероятности инфицирования.

Общеизвестно, что распространённость ВГВ оценивают по встречаемости HBsAg и, соответственно, выделяют географические регионы с высоким (> 8%), умеренным (2–7%) и низким (< 2%) уровнями распространённости инфекции среди населения. Россия в целом относится к странам с умеренной распространённостью. Однако такой метод не позволяет учитывать распространённость скрытой, HBsAg-негативной формы заболевания. Выявление в рамках нашего исследования 4,93% доноров ДНК ВГВ свидетельствует о недостаточности применяемых в настоящее время методов для скрининга доноров крови на маркеры ВГВ. Отсутствие достоверных отличий в частоте встречаемости ДНК ВГВ у мужчин и женщин не позволяет рассматривать мужской пол как фактор риска для развития скВГВ, несмотря на то что беспорядочные половые связи и иные варианты рискованного поведения в большей степени характерны для мужского пола. Ранее, оценивая распространённость HBsAg-негативного ХВГВ у доноров крови в Казахстане, мы также отмечали отсутствие достоверных отличий и лишь некоторую тенденцию к более частому инфицированию мужчин (10,1%) по сравнению с женщинами (6,9%) [20]. Напротив, у доноров крови в Гвинейской Республике встречаемость ДНК ВГВ у мужчин (18,61%) достоверно превышала таковую у женщин — 10,5% ($\chi^2 = 27,285$; $p < 0,0001$; $df = 1$) [21]. Можно предположить, что в наличии или отсутствии отличий могут играть роль как распространённость патогена в регионе, так и различия в особенностях поведения мужчин и женщин в России, Казахстане и Гвинее.

Отметим, что, с одной стороны, выявление только 18,08% случаев ДНК ВГВ среди всех положительных по анти-HBcore IgG доноров свидетельствует об избыточности указанного серологического маркера при диагностике. С другой стороны, только у 46,38% ДНК ВГВ-позитивных лиц обнаруживали анти-HBcore IgG, что, в свою очередь, демонстрирует недостаточность тестирования на анти-HBcore IgG для обнаружения всех доноров со скВГВ. Отдельного внимания заслуживают случаи выявления ДНК ВГВ у доноров с сочетанием антител анти-HBs IgG и анти-HBcore IgG, а также у лиц только с анти-HBs IgG. Ранее такое явление описывали преимущественно у больных с иммуносупрессией различного генеза, однако обнаруживали также и у иммунокомпетентных доноров крови. Так, среди HBsAg-негативных доноров крови с ДНК ВГВ в Китае 85% были реактивными в отношении анти-HBcore, 36,2% — анти-HBc и анти-HBs, 11,3% не имели серологических маркеров [22]. Ввиду того, что такой серологический профиль у лиц с HBsAg-негативной формой ХВГВ более распространён в странах Азии (13%), чем в Европе (2%), высказано предположение о его взаимосвязи с недостаточным охватом вакцинацией [10].

Растущая чувствительность ПЦР-методов, направленная на выявление ВГВ при крайне низкой вирусной нагрузке, потенциально способна приводить к появлению ложноположительных ответов. Из-за расхождения результатов анализа между серологическими и высокочувствительными молекулярно-генетическими тестами при скВГВ представляется затруднительным различать истинные и ложноположительные случаи обнаружения ДНК вируса. В связи с вышесказанным секвенирование нуклеотидных последовательностей всех выявленных изолятов является убедительным способом подтверждения HBsAg-негативного ХВГВ.

Генотипический профиль ВГВ в обследуемой группе имеет несколько особенностей. Так, ранее для Уральского федерального округа описывали только генотип D, что схоже с полученными нами результатами, в то время как для России в целом характерно преобладание генотипа D, но также распространённость генотипа A субгенотипа A2 и генотипа C субгенотипа C1 [23]. Однако в то время, как для центральной и северо-западной части страны характерен ВГВ субгенотипа D2, в настоящем исследовании ведущую роль играет субгенотип D3, тогда как D2 незначительно превышает по частоте встречаемости D1. Авторы считают, что такое распределение субгенотипов генотипа D обусловлено близким соседством с Казахстаном и значительным количеством мигрантов из указанного региона, встречаемость в котором ВГВ D3 и D1 крайне высока [24]. Кроме того, известно, что преобладание ВГВ D3 типично в группах пациентов, сообщавших

о рискованном сексуальном поведении, тогда как множественность вариантов вируса описана для когорт, представленных людьми, считающими, что инфицирование произошло во время медицинских манипуляций [25]. Полученные результаты в целом могут служить дополнительным свидетельством изменения эпидемиологического профиля ВГВ в России за счёт трудовой миграции из стран Средней Азии. Разнообразие геновариантов вируса в пределах субгенотипов указывает на множественность независимых источников инфицирования выявленных случаев генотипа D в обследованной группе. Особого внимания заслуживают 4 изолята субгенотипа C2, практически не представленного на территории нашей страны, выделенные от мужчин в возрасте 25–30 лет, проживающих в одном городе и не являющихся родственниками. Для лучшей дифференциации полученных изолятов мы выбрали в международной базе данных GenBank 8 полных геномов ВГВ субгенотипа C2, наибольшее сходство с которыми было показано для наших образцов. Однако при филогенетическом анализе выявленные нами изоляты не образовали монофилетической клады, связанной с какой-либо референсной последовательностью. В связи с вышесказанным, несмотря на анамнестические данные доноров крови, авторы предполагают как минимум 2 независимых случая завоза в регион указанного субгенотипа.

Как известно, антигенную специфичность характеризуют серотипы, определение которых нередко осуществляют параллельно с генотипированием, поскольку, по некоторым данным, клиническое течение ХВГВ может быть связано с генотипом и серотипом вируса [26]. В России серотипы ауw2 и ауw3 типичны для изолятов генотипа D, что в целом согласуется с полученными нами результатами. Однако 4 случая серотипа адw3 изолятов D2 могут быть связаны с мутациями детерминанты «а», третичная структура которой способна определять антигенную специфичность [27]. В большинстве случаев ХВГВ, выявленных нами в группе доноров, вирусная нагрузка крайне низка и только в указанных образцах достигала 10^5 МЕ/мл, что позволило предположить ложный скВГВ, характеризующийся достаточно высокой вирусной нагрузкой и модифицированным HBsAg, отсутствие которого при тестировании связано с неэффективностью диагностических наборов.

В качестве профилактики заражения ВГВ доступна безопасная и эффективная вакцина, обеспечивающая 98–100% защиты от вируса, предотвращающая развитие осложнений, включая хроническое заболевание и первичный рак печени. Однако некоторые мутации, возникающие в геноме вируса как естественным образом, так и под селективным действием внешних факторов, могут приводить к избеганию терапевтических, профилактических

и диагностических мероприятий. Основной белок оболочки ВГВ состоит из N-конца (положения аминокислот 1–99), MHR (положения аминокислот 100–169) и C-конца (положения аминокислот 170–226). Главный гидрофильный регион включает 2 петли, связанные дисульфидными мостиками между cys124–cys137 и cys139–cys147, и является мишенью антител, индуцированных иммунизацией и используемых в диагностических анализах [28]. Разрушение мостиков за счёт возникающих мутаций приводит к изменению конформации белка и, как следствие, к невозможности нейтрализации вируса вакцинными антителами, а также к упомянутой нами выше неэффективности диагностических наборов из-за неспособности антител распознать модифицированный эпитоп [5]. Таким образом, в некоторых случаях профилактическое применение вакцин или иммуноглобулинов может оказаться неэффективным.

Все выявленные в настоящей работе изоляты несли аминокислотные замены в MHR, включая мутации, ассоциированные с HBsAg-негативным ХВГВ, а также ранее описанные как escape-мутации, или мутации вакцинного избегания [29]. Кроме того, некоторые из обнаруженных мутаций S-региона ассоциированы с прогрессированием заболевания печени. Например, согласно данным N. Thi Sam Huong и соавт., риск развития ГКЦ составил 3,38 при инфицировании вирусом с полиморфизмом *P120S* [30]. Особого внимания заслуживает тот факт, что во всех выявленных нами случаях скВГВ у доноров крови были представлены вирусы по крайней мере с 1 аминокислотной заменой в положениях 120, 126 и 131, мутации в которых действуют как ускользающие от вакцины. Данное обстоятельство, очевидно, может представлять опасность в связи с возможностью передачи патогена вакцинированным лицам. Кроме того, циркуляция в группе доноров крови изолятов с escape-мутациями является проблемой с точки зрения повышенного риска реактивации ВГВ у пациентов с ослабленным иммунитетом, что имеет особое значение при переливании крови и её компонентов [31].

В связи с вышесказанным вариабельность участка обратной транскриптазы гена *P* не удивительна; с другой стороны, аминокислотные замены в этом домене также могут приводить к низким уровням ДНК ВГВ и HBsAg. Выявленные мутации фармакорезистентности (*L180M*, *M204I*) и компенсаторная мутация *T184A* описаны у пациентов с коинфекцией ВИЧ + ВГВ и относятся к наиболее распространённым среди получающих антиретровирусную терапию лиц в европейском многоцентровом исследовании [32]. Обнаружение 3 случаев скВГВ, сочетающихся с мутациями ускользания мутации фармакорезистентности, представляет очевидную угрозу инфициро-

вания реципиентов устойчивым к терапии вирусом, обнаружение которого затруднено без использования сложных высокочувствительных молекулярно-биологических методов.

В нашей работе мутации в preCore-регионе были выявлены в 71% случаев, в то время как любые изменения в последовательности этого фрагмента потенциально могут служить маркерами прогрессирования заболевания. Так, полиморфизм позиций 28 и 29, обнаруженный нами, достоверно ассоциирован с развитием цирроза печени и ГЦК. Известно также, что стоп-кодон в положении 28 (*W28**) способен негативно влиять на синтез HBeAg, отвечая более чем за 90% случаев дефектной секреции указанного белка [6]. В настоящем исследовании мы не определили стоп-кодона, и можно предположить, что *W28L* и *W28S* являются переходным «этапом» к появлению мутации *W28**.

Среди общего разнообразия полиморфных вариантов в регионе Core выявлены ассоциированные с развитием заболевания печени мутации (например, *F24Y*, *E40D/Q*, *E77D*, *A80I/T*), локализованные, как известно, в районе эпитопов Т-клеток (*F24Y*, *E40D/Q*) и В-клеток (*E77D*, *A80I/T*, *L116V/I*) [33]. Модификации аминокислотной последовательности между позициями 113 и 143 влияют на антигенность и стабильность вируса. Теоретически мутации в основных иммунных эпитопах способны нарушить иммунный ответ, что приводит к персистирующей инфекции и, вероятно, может являться одной из причин развития скВГВ у обследованных доноров крови, а также разнообразия выявляемых у больных полиморфных вариантов во всех регионах генома вируса [34]. Полученные нами результаты согласуются с исследованиями М. Wang и соавт., определившими значительно большую вариабельность регионов генома *S*, включая MHR, и *P*, включая регион обратной транскриптазы, вируса при скВГВ по сравнению с HBsAg-положительной формой течения заболевания [35].

СкВГВ представляет собой угрозу передачи ВГВ при переливании крови и её компонентов, ситуация могут усугубить выявленные нами обилие и разнообразие аминокислотных замен вируса, включающих мутации иммунологического избегания, мутации фармакорезистентности и мутации, способствующие прогрессированию развития заболевания, цирроза и ГЦК. Следует также помнить, что значительную долю реципиентов составляют новорождённые и дети, в то время как при инфицировании ВГВ до 5 лет вероятность хронизации достигает 90%. Изучение характеристик полноразмерного генома ВГВ среди доноров крови из различных регионов будет способствовать пониманию ситуации с частотой встречаемости скВГВ среди доноров и значения HBsAg-негативного ХВГВ для распространения патогена в популяции.

Заключение

Высокая частота встречаемости скВГВ среди доноров крови свидетельствует не только о широком распространении HBsAg-негативной формы заболевания в популяции, но и о недостаточности общепринятых методов анализа и/или чувствительности диагностических тестов для выявления ХВГВ, требуя внимания и эффективных мер для обеспечения безопасного переливания крови. Выявленная гипервариабельность генома вируса убеждает в необходимости изучения отличительных черт патогена и иммунного ответа хозяина при скрытом течении ВГВ. Использование молекулярной филогенетики может способствовать пониманию эпидемиологии инфекционного процесса, выявлению особенностей распространения и роли «завозных» генотипов ВГВ в циркуляции вируса в регионе.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Lin Y.Y., Liu C., Chien W.H., Wu L.L., Tao Y., Wu D., et al. New insights into the evolutionary rate of hepatitis B virus at different biological scales. *J. Virol.* 2015; 89(7): 3512–22. <https://doi.org/10.1128/JVI.03131-14>
2. Kao J.H. Molecular Epidemiology of Hepatitis B Virus. *Korean J. Intern. Med.* 2011; 26(3): 255–61. <https://doi.org/10.3904/kjim.2011.26.3.255>
3. Lin C.L., Kao J.H. Hepatitis B virus genotypes and variants. *Cold Spring Harb. Perspect. Med.* 2015; 5(5): a021436. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a021436>
4. Ye Q., Shang S.Q., Li W. A new vaccine escape mutant of hepatitis B virus causes occult infection. *Hum. Vaccin. Immunother.* 2015; 11(2): 407–10. <https://doi.org/10.4161/21645515.2014.994461>
5. Xue Y., Wang M.J., Yang Z.T., Yu D.M., Han Y., Huang D., et al. Clinical features and viral quasispecies characteristics associated with infection by the hepatitis B virus G145R immune escape mutant. *Emerg. Microbes. Infect.* 2017; 6(3): e15. <https://doi.org/10.1038/emi.2017.2>
6. Yilm., Cortese M.F., Guerrero-Murillo M., Orriols G., Gregori J., Casillas R., et al. Conservation and variability of hepatitis B core at different chronic hepatitis stages. *World J. Gastroenterol.* 2020; 26(20): 2584–98. <https://doi.org/10.3748/wjg.v26.i20.2584>
7. Mixson-Hayden T., Lee D., Ganova-Raeva L., Drobeniuc J., Stauffer W.M., Teshale E., et al. Hepatitis B virus and hepatitis C virus infections in United States-bound refugees from Asia and Africa. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2014; 90(6): 1014–20. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.14-0068>
8. Candotti D., Assennato S.M., Laperche S., Allain J.P., Levicnik-Stezinar S. Multiple HBV transfusion transmissions from undetected occult infections: revising the minimal infectious dose. *Gut.* 2019; 68(2): 313–21. <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2018-316490>
9. Raimondo G., Locarnini S., Pollicino T., Levrero M., Zoulim F., Lok A.S. Update of the statements on biology and clinical impact of occult hepatitis B virus infection. *J. Hepatol.* 2019; 71(2): 397–408. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2019.03.034>
10. Candotti D., Laperche S. Hepatitis B virus blood screening: need for reappraisal of blood safety measures? *Front. Med. (Lansanne)*. 2018; 5: 29. <https://doi.org/10.3389/fmed.2018.00029>
11. Pisano M.B., Blanco S., Carrizo H., Ré V.E., Gallego S. Hepatitis B virus infection in blood donors in Argentina: prevalence of infection, genotype distribution and frequency of occult HBV

- infection. *Arch. Virol.* 2016; 161; (10): 2813–17. <https://doi.org/10.1007/s00705-016-2960-2>
12. Jutavijittum P., Andernach I.E., Yousukh A., Samountry B., Samountry K., Thammavong T., et al. Occult hepatitis B infections among blood donors in Lao PDR. *Vox Sang.* 2014; 106(1): 31–7. <https://doi.org/10.1111/vox.12073>
 13. Alavian S.M. Occult hepatitis B virus infection among hemodialysis patients. *Hepat. Mon.* 2012; 12(4): 242–3. <https://doi.org/10.5812/hepatmon.869>
 14. Smolle E., Zohrer E., Bettermann K., Haybaeck J. Viral hepatitis induces hepatocellular cancer: What can we learn from epidemiology comparing Iran and worldwide findings? *Hepat. Mon.* 2012; 12(10 HCC): e7879. <https://doi.org/10.5812/hepatmon.7879>
 15. Vaezjalali M., Rashidpour S., Rezaee H., Hajibeigi B., Zeidi M., Gachkar L., et al. Hepatitis B viral DNA among HBs antigen negative healthy blood donors. *Hepat. Mon.* 2013; 13(3): e6590. <https://doi.org/10.5812/hepatmon.6590>
 16. Серикова Е.Н., Семенов А.В., Останкова Ю.В., Тотолян А.А. Метод выявления вируса гепатита В в плазме крови при низкой вирусной нагрузке с использованием ПЦР в режиме реального времени. *Клиническая лабораторная диагностика.* 2021; 66(1): 59–64. <https://doi.org/10.18821/0869-2084-2021-66-1-59-64>
 17. Останкова Ю.В., Семенов А.В., Тотолян Арег А. Выявление вируса гепатита В в плазме крови при низкой вирусной нагрузке. *Клиническая лабораторная диагностика.* 2019; 64(10): 635–40. <https://doi.org/10.18821/0869-2084-2019-64-10-635-640>
 18. Tamura K., Stecher G., Kumar S. MEGA11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 11. *Mol. Biol. Evol.* 2021; 38(7): 3022–7. <https://doi.org/10.1093/molbev/msab120>
 19. Покровский В.И., Тотолян А.А., ред. *Вирусные гепатиты в Российской Федерации. Аналитический обзор. 11 выпуск.* СПб.; 2018.
 20. Останкова Ю.В., Семенов А.В., Буркитбаев Ж.К., Савчук Т.Н., Тотолян А.А. Результаты генотипирования вируса гепатита В у HBsAg-негативных доноров крови в г. Астана, Казахстан. *Инфекция и иммунитет.* 2017; 7(4): 383–92. <https://doi.org/10.15789/2220-7619-2017-4-383-392>
 21. Бумбали С., Балде Т.Л., Семенов А.В., Останкова Ю.В., Серикова Е.Н., Найденова Е.В. и др. Распространенность маркеров вирусного гепатита В среди доноров крови в Гвинейской Республике. *Вопросы вирусологии.* 2022; 67(1): 59–68. <https://doi.org/10.36233/0507-4088-92>
 22. Lin H., Zhao H., Tang X., Hu W., Jiang N., Zhu S., et al. Serological Patterns and Molecular Characterization of Occult Hepatitis B Virus Infection among Blood Donors. *Hepat. Mon.* 2016; 16(10): e40492. <https://doi.org/10.5812/hepatmon.40492>
 23. Tallo T., Tefanova V., Priimägi L., Schmidt J., Katargina O., Mikhailov M., et al. D2: major subgenotype of hepatitis B virus in Russia and the Baltic region. *J. Gen. Virol.* 2008; 89(Pt. 8): 1829–39. <https://doi.org/10.1099/vir.0.83660-0>
 24. Шевцов А.Б., Филипенко М.Л., Киянбекова Л.С., Кравченко А.П., Омралина А.Е., Абеев А.Б. и др. Генотипы вируса гепатита В, циркулирующие на территории г. Астана. *Биотехнология. Теория и практика.* 2011; (4): 14–23.
 25. Sarkar N., Pal A., Das D., Saha D., Biswas A., Bandyopadhyay B., et al. Virological Characteristics of acute hepatitis B in eastern India: critical differences with chronic infection. *PLoS One.* 2015; 10(11): e0141741. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0141741>
 26. Безуплова Л.В., Мануйлов В.А., Осипова Л.П., Мосина Я.Д., Порываева В.А., Агафонова О.А. и др. Результаты испытаний реагентов для иммуноферментного определения субтипа HBsAg и генотипа вируса гепатита В в образцах плазмы крови человека. *Молекулярная генетика, микробиология и вирусология.* 2020; 38(4): 188–95. <https://doi.org/10.17116/molgen202038041188>
 27. Moradi A., Zhand S., Ghaemi A., Javid N., Tabarraei A. Mutations in the S gene region of hepatitis B virus genotype D in Golestan Province-Iran. *Virus Genes.* 2012; 44(3): 382–7. <https://doi.org/10.1007/s11262-012-0715-z>
 28. Tang Y., Liu X., Lu X., He Q., Li G., Zou Y. Occult hepatitis B virus infection in maintenance hemodialysis patients: prevalence and mutations in "a" determinant. *Int. J. Med. Sci.* 2020; 17(15): 2299–305. <https://doi.org/10.7150/ijms.49540>
 29. Araújo S.D.R., Malheiros A.P., Sarmento V.P., Nunes H.M., Freitas P.E.B. Molecular investigation of occult hepatitis B virus infection in a reference center in Northern Brazil. *Braz. J. Infect. Dis.* 2022; 26(3): 102367. <https://doi.org/10.1016/j.bjid.2022.102367>
 30. Thi Cam Huong N., Trung N.Q., Luong B.A., Tram D.B., Vu H.A., Bui H.H., et al. Mutations in the HBV PreS/S gene related to hepatocellular carcinoma in Vietnamese chronic HBV-infected patients. *PLoS One.* 2022; 17(4): e0266134. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0266134>
 31. Colagrossi L., Hermans L.E., Salpini R., Di Carlo D., Pas S.D., Alvarez M., et al. Immune-escape mutations and stop-codons in HBsAg develop in a large proportion of patients with chronic HBV infection exposed to anti-HBV drugs in Europe. *BMC Infect. Dis.* 2018; 18(1): 251. <https://doi.org/10.1186/s12879-018-3161-2>
 32. Hermans L.E., Svicher V., Pas S.D., Salpini R., Alvarez M., Ben Ari Z., et al. Combined analysis of the prevalence of drug-resistant hepatitis B virus in antiviral therapy-experienced patients in Europe (CAPRE). *J. Infect. Dis.* 2016; 213(1): 39–48. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiv363>
 33. Al-Qahtani A.A., Al-Anazi M.R., Nazir N., Abdo A.A., Sanaei F.M., Al-Hamoudi W.K., et al. The correlation between hepatitis B virus precore/core mutations and the progression of severe liver disease. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 2018; 8: 355. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2018.00355>
 34. Sanaei N., Hashemi S.M.A., Dehno S.Z.S., Asl M.M., Moini M., Malek-Hosseini S.A., et al. Precore/core mutations of hepatitis B virus genotype D arising in different states of infection. *Clin. Exp. Hepatol.* 2022; 8(1): 21–8. <https://doi.org/10.5114/ceh.2022.114253>
 35. Wang M., Xu R., Huang J., Liao Q., Tang X., Shan Z., et al. Molecular characteristics of the full-length genome of occult hepatitis B virus from blood donors in China. *Sci. Rep.* 2022; 12(1): 8194. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-12288-0>

REFERENCES

1. Lin Y.Y., Liu C., Chien W.H., Wu L.L., Tao Y., Wu D., et al. New insights into the evolutionary rate of hepatitis B virus at different biological scales. *J. Virol.* 2015; 89(7): 3512–22. <https://doi.org/10.1128/JVI.03131-14>
2. Kao J.H. Molecular Epidemiology of Hepatitis B Virus. *Korean J. Intern. Med.* 2011; 26(3): 255–61. <https://doi.org/10.3904/kjim.2011.26.3.255>
3. Lin C.L., Kao J.H. Hepatitis B virus genotypes and variants. *Cold Spring Harb. Perspect. Med.* 2015; 5(5): a021436. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a021436>
4. Ye Q., Shang S.Q., Li W. A new vaccine escape mutant of hepatitis B virus causes occult infection. *Hum. Vaccin. Immunother.* 2015; 11(2): 407–10. <https://doi.org/10.4161/21645515.2014.994461>
5. Xue Y., Wang M.J., Yang Z.T., Yu D.M., Han Y., Huang D., et al. Clinical features and viral quasispecies characteristics associated with infection by the hepatitis B virus G145R immune escape mutant. *Emerg. Microbes. Infect.* 2017; 6(3): e15. <https://doi.org/10.1038/emi.2017.2>

6. Yll M., Cortese M.F., Guerrero-Murillo M., Orriols G., Gregori J., Casillas R., et al. Conservation and variability of hepatitis B core at different chronic hepatitis stages. *World J. Gastroenterol.* 2020; 26(20): 2584–98. <https://doi.org/10.3748/wjg.v26.i20.2584>
7. Mixson-Hayden T., Lee D., Ganova-Raeva L., Drobeniuc J., Stauffer W.M., Teshale E., et al. Hepatitis B virus and hepatitis C virus infections in United States-bound refugees from Asia and Africa. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2014; 90(6): 1014–20. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.14-0068>
8. Candotti D., Assennato S.M., Laperche S., Allain J.P., Levicnik-Stezinar S. Multiple HBV transfusion transmissions from undetected occult infections: revising the minimal infectious dose. *Gut.* 2019; 68(2): 313–21. <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2018-316490>
9. Raimondo G., Locarnini S., Pollicino T., Levrero M., Zoulim F., Lok A.S. Update of the statements on biology and clinical impact of occult hepatitis B virus infection. *J. Hepatol.* 2019; 71(2): 397–408. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2019.03.034>
10. Candotti D., Laperche S. Hepatitis B virus blood screening: need for reappraisal of blood safety measures? *Front. Med. (Lausanne)*. 2018; 5: 29. <https://doi.org/10.3389/fmed.2018.00029>
11. Pisano M.B., Blanco S., Carrizo H., Ré V.E., Gallego S. Hepatitis B virus infection in blood donors in Argentina: prevalence of infection, genotype distribution and frequency of occult HBV infection. *Arch. Virol.* 2016; 161(10): 2813–17. <https://doi.org/10.1007/s00705-016-2960-2>
12. Jutavijittum P., Andernach I.E., Yousukh A., Samounry B., Samounry K., Thammavong T., et al. Occult hepatitis B infections among blood donors in Lao PDR. *Vox Sang.* 2014; 106(1): 31–7. <https://doi.org/10.1111/vox.12073>
13. Alavian S.M. Occult hepatitis B virus infection among hemodialysis patients. *Hepat. Mon.* 2012; 12(4): 242–3. <https://doi.org/10.5812/hepatmon.869>
14. Smolle E., Zohrer E., Bettermann K., Haybaeck J. Viral hepatitis induces hepatocellular cancer: What can we learn from epidemiology comparing Iran and worldwide findings? *Hepat. Mon.* 2012; 12(10 HCC): e7879. <https://doi.org/10.5812/hepatmon.7879>
15. Vaezjalali M., Rashidpour S., Rezaee H., Hajibeigi B., Zeidi M., Gachkar L., et al. Hepatitis B viral DNA among HBs antigen negative healthy blood donors. *Hepat. Mon.* 2013; 13(3): e6590. <https://doi.org/10.5812/hepatmon.6590>
16. Serikova E.N., Semenov A. V., Ostankova Yu. V., Totolyan A.A. Method for detecting hepatitis B virus in blood plasma at low viral load using real-time PCR. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika.* 2021; (1): 59–64. <https://doi.org/10.18821/0869-2084-2021-66-1-59-64> (in Russian)
17. Ostankova Yu.V., Semenov A.V., Totolyan Areg A. Hepatitis B virus identification in a blood plasma at a low viral load. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika.* 2019; (10): 635–40. <https://doi.org/10.18821/0869-2084-2019-64-10-635-640> (In Russian)
18. Tamura K., Stecher G., Kumar S. MEGA11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 11. *Mol. Biol. Evol.* 2021; 38(7): 3022–7. <https://doi.org/10.1093/molbev/msab120>
19. Pokrovskiy V.I., Totolyan A.A., eds. *Viral Hepatitis in the Russian Federation. Analytical Review. Issue 11 [Virusnye gepatity v Rossiyskoy Federatsii. Analiticheskiy obzor. 11 vypusk]*. St. Petersburg; 2018. (in Russian)
20. Ostankova Yu.V., Semenov A.V., Burkitbaev Zh.K., Savchuk T.N., Totolyan A.A. Results of genotyping hepatitis B virus B in HBsAg-negative blood donors in Astana, Kazakhstan. *Infektsiya i immunitet.* 2017; 7(4): 383–92. <https://doi.org/10.15789/2220-7619-2017-4-383-392> (in Russian)
21. Bumbali S., Balde T.L., Semenov A.V., Ostankova Yu.V., Serikova E.N., Naydenova E.V. et al. Prevalence of viral hepatitis B markers among blood donors in the republic of Guinea. *Voprosy virusologii.* 2022; 67(1): 59–68. <https://doi.org/10.36233/0507-4088-92> (in Russian)
22. Lin H., Zhao H., Tang X., Hu W., Jiang N., Zhu S., et al. Serological Patterns and Molecular Characterization of Occult Hepatitis B Virus Infection among Blood Donors. *Hepat. Mon.* 2016; 16(10): e40492. <https://doi.org/10.5812/hepatmon.40492>
23. Tallo T., Tefanova V., Priimägi L., Schmidt J., Katargina O., Michailov M., et al. D2: major subgenotype of hepatitis B virus in Russia and the Baltic region. *J. Gen. Virol.* 2008; 89(Pt. 8): 1829–39. <https://doi.org/10.1099/vir.0.83660-0>
24. Shevtsov A.B., Filipenko M.L., Kiyankova L.S., Kravchenko A.P., Omralina A.E., Abeev A.B. et al. Hepatitis B virus genotypes circulating in Astana. *Biotechnology. Teoriya i praktika.* 2011; (4): 14–23. (in Russian)
25. Sarkar N., Pal A., Das D., Saha D., Biswas A., Bandopadhyay B., et al. Virological Characteristics of acute hepatitis B in eastern India: critical differences with chronic infection. *PLoS One.* 2015; 10(11): e0141741. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0141741>
26. Bezuglova L.V., Manuylov V.A., Osipova L.P., Mosina Ya.D., Poryvaeva V.A., Agafonova O.A., et al. Trial results for elisa test kits for hbsag subtype and hepatitis B virus genotype identification in human blood plasma. *Molekulyarnaya genetika, mikrobiologiya i virusologiya.* 2020; 38(4): 188–95. <https://doi.org/10.17116/molgen202038041188> (in Russian)
27. Moradi A., Zhand S., Ghaemi A., Javid N., Tabarraei A. Mutations in the S gene region of hepatitis B virus genotype D in Golestan Province-Iran. *Virus Genes.* 2012; 44(3): 382–7. <https://doi.org/10.1007/s11262-012-0715-z>
28. Tang Y., Liu X., Lu X., He Q., Li G., Zou Y. Occult hepatitis B virus infection in maintenance hemodialysis patients: prevalence and mutations in "a" determinant. *Int. J. Med. Sci.* 2020; 17(15): 2299–305. <https://doi.org/10.7150/ijms.49540>
29. Araújo S.D.R., Malheiros A.P., Sarmento V.P., Nunes H.M., Freitas P.E.B. Molecular investigation of occult hepatitis B virus infection in a reference center in Northern Brazil. *Braz. J. Infect. Dis.* 2022; 26(3): 102367. <https://doi.org/10.1016/j.bjid.2022.102367>
30. Thi Cam Huong N., Trung N.Q., Luong B.A., Tram D.B., Vu H.A., Bui H.H., et al. Mutations in the HBV PreS/S gene related to hepatocellular carcinoma in Vietnamese chronic HBV-infected patients. *PLoS One.* 2022; 17(4): e0266134. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0266134>
31. Colagrossi L., Hermans L.E., Salpini R., Di Carlo D., Pas S.D., Alvarez M., et al. Immune-escape mutations and stop-codons in HBsAg develop in a large proportion of patients with chronic HBV infection exposed to anti-HBV drugs in Europe. *BMC Infect. Dis.* 2018; 18(1): 251. <https://doi.org/10.1186/s12879-018-3161-2>
32. Hermans L.E., Svicher V., Pas S.D., Salpini R., Alvarez M., Ben Ari Z., et al. Combined analysis of the prevalence of drug-resistant hepatitis B virus in antiviral therapy-experienced patients in Europe (CAPRE). *J. Infect. Dis.* 2016; 213(1): 39–48. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiv363>
33. Al-Qahtani A.A., Al-Anazi M.R., Nazir N., Abdo A.A., Sanaei F.M., Al-Hamoudi W.K., et al. The correlation between hepatitis B virus precore/core mutations and the progression of severe liver disease. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 2018; 8: 355. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2018.00355>
34. Sanaei N., Hashemi S.M.A., Dehno S.Z.S., Asl M.M., Moini M., Malek-Hosseini S.A., et al. Precore/core mutations of hepatitis B virus genotype D arising in different states of infection. *Clin. Exp. Hepatol.* 2022; 8(1): 21–8. <https://doi.org/10.5114/ceh.2022.114253>
35. Wang M., Xu R., Huang J., Liao Q., Tang X., Shan Z., et al. Molecular characteristics of the full-length genome of occult hepatitis B virus from blood donors in China. *Sci. Rep.* 2022; 12(1): 8194. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-12288-0>

Информация об авторах

Останкова Юлия Владимировна[✉] — к.б.н., зав. лаб. иммунологии и вирусологии ВИЧ-инфекции, с.н.с. лаб. молекулярной иммунологии СПбНИИЭМ им. Пастера, Санкт-Петербург, Россия, shenna1@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-2270-8897>

Серикова Елена Николаевна — н.с. лаб. иммунологии и вирусологии ВИЧ-инфекции СПбНИИЭМ им. Пастера, Санкт-Петербург, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-0547-3945>

Семенов Александр Владимирович — д.б.н., директор Екатеринбургского НИИ вирусных инфекций ГНЦ вирусологии и биотехнологии «Вектор», Екатеринбург, Россия, <https://orcid.org/0000-0003-3223-8219>

Зуева Елена Борисовна — к.б.н., биолог отделения ВИЧ-инфекции и СПИД ассоциированных заболеваний СПбНИИЭМ им. Пастера, Санкт-Петербург, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-0579-110X>

Валутите Диана Эдуардовна — врач клинической лабораторной диагностики отделения ВИЧ-инфекции и СПИД-ассоциированных заболеваний СПбНИИЭМ им. Пастера, Санкт-Петербург, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-0931-102X>

Щемелев Александр Николаевич — м.н.с. лаб. иммунологии и вирусологии ВИЧ-инфекции СПбНИИЭМ им. Пастера, Санкт-Петербург, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-3139-3674>

Зурочка Владимир Александрович — д.м.н., с.н.с. лаб. иммунологии воспаления Института иммунологии и физиологии УрО РАН, Екатеринбург, Россия; с.н.с. лаб. иммунобиотехнологии Научно-образовательного центра Российско-китайского центра системной патологии Южно-Уральского государственного университета, Челябинск, Россия, <https://orcid.org/0000-0001-8930-3742>

Тотоян Арег Артёмович — д.м.н., профессор, академик РАН, зав. лаб. молекулярной иммунологии, директор СПбНИИЭМ им. Пастера, Санкт-Петербург, Россия; зав. каф. иммунологии Первого Санкт-Петербургского медицинского университета им. акад. И.П. Павлова, Санкт-Петербург, <https://orcid.org/0000-0003-4571-8799>

Участие авторов. Все авторы внесли существенный вклад в проведение поисково-аналитической работы и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию до публикации.

Статья поступила в редакцию 06.08.2022;
принята к публикации 10.10.2022;
опубликована 30.12.2022

Information about the authors

Yulia V. Ostankova[✉] — Cand. Sci. (Biol.), Head, Laboratory of HIV immunology and virology, senior researcher, Laboratory of molecular immunology, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russia, shenna1@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-2270-8897>

Elena N. Serikova — researcher, Laboratory of HIV immunology and virology, senior researcher, Laboratory of molecular immunology, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-0547-3945>

Aleksandr V. Semenov — D. Sci. (Biol.), Director, Ekaterinburg Research Institute of Viral Infections State Research Center of Virology and Biotechnology “Vector”, Yekaterinburg, Russia, <https://orcid.org/0000-0003-3223-8219>

Elena B. Zueva — Cand. Sci. (Biol.), biologist, Department of HIV infection and AIDS-associated diseases, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-0579-110X>

Diana E. Valutite — doctor of clinical laboratory diagnostics, Department for diagnosing HIV infection and AIDS-related diseases, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-0931-102X>

Aleksandr N. Schemelelev — junior researcher, Laboratory of HIV immunology and virology, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-3139-3674>

Vladimir A. Zurochka — D. Sci. (Med.), senior researcher, Laboratory of inflammatory immunology, Institute of Immunology and Physiology, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Yekaterinburg, Russia; senior researcher, Laboratory of immunobiotechnology, Scientific and Educational Center of the Russian–Chinese Center for Systemic Pathology, South Ural State University, Chelyabinsk, Russia, <https://orcid.org/0000-0001-8930-3742>

Areg A. Totolian — D. Sci. (Med.), Professor, RAS Full Member, Head, Laboratory of molecular immunology, Director, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russia; Head, Department of immunology, I.P. Pavlov First St. Petersburg State Medical University, St. Petersburg, Russia, <https://orcid.org/0000-0003-4571-8799>

Author contribution. All authors made a substantial contribution to the conception of the work, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the work, final approval of the version to be published.

The article was submitted 06.08.2022;
accepted for publication 10.10.2022;
published 30.12.2022