

С.Н. Кузин¹, Е.И. Самохвалов², Н.Н. Забелин², Е.Н. Кудрявцева¹, Т.А. Семенов³, Л.Е. Кузина⁴, Д.К. Львов²

Проблема диагностического ускользания вируса гепатита В

¹ФБГУ НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова РАМН, Москва, ²ФГБУ НИИ вирусологии им. Д.И. Ивановского Минздравсоцразвития России, ³ФБГУ НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи Минздравсоцразвития России, ⁴Инфекционная клиническая больница № 1 Департамента здравоохранения, Москва

Представлены современные данные о генетической вариабельности вируса гепатита В и связанные с этим проблемы серологической диагностики.

Ключевые слова: *вирус гепатита В, иммуноферментный анализ, HBsAg, "a"- детерминанта, главный гидрофильный регион, аминокислотные замены*

Problems of Diagnosis of the Hepatitis B Virus

S. N. Kuzin¹, E. I. Samokhvalov², N. N. Zabelin², E. N. Kudryavtseva¹, T. A. Semenenko³, L. E. Kuzina⁴, D. K. Lvov²

¹ Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera, Russian Academy of Medical Sciences, Moscow, Russia;

²Ivanovsky Institute of Virology, Ministry of Health and Social Development of the Russian Federation, Moscow, Russia;

³ Gamaleya Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Ministry of Health and Social Development of the Russian Federation, Moscow, Russia; ⁴ Municipal Clinical Hospital of Infectious Diseases No. 1, Moscow, Russia

The recent data on the genetic variability of the hepatitis B virus and problems of serological ELISA-mediated detection of this virus are discussed.

Key words: hepatitis B virus, ELISA, HBsAg, a-determinant, main hydrophilic region, amino acid substitutions

Ведущим механизмом изменчивости вируса гепатита В (ВГВ) является использование в репликационном цикле обратнo-транскриптазной активности собственной полимеразы, которая не имеет корректирующей функции. В результате скорость мутаций у ВГВ выше, чем у других ДНК-содержащих вирусов, но ниже, чем у РНК-содержащих вирусов, и составляет примерно $1,5 \cdot 10^{-5} - 5 \cdot 10^{-5}$ оснований на сайт в год [44]. Генетическая вариабельность генома ВГВ обуславливает существование различных генотипов, субгенотипов, серотипов в качестве стабильных форм, которые возникли в результате эволюции генома вируса под действием различных селективных факторов. В настоящее время идентифицированы 8 генотипов ВГВ, имеющих разное географическое распространение и обозначаемых латинскими буквами от А до Н. Различия в нуклеотидной последовательности целых геномов ВГВ, принадлежащих к разным генотипам, составляют не менее 8%. Последующие исследования позволили идентифицировать внутри генотипов ВГВ А, В, С, D и F ряд субгенотипов, имеющих различия полных геномных последовательностей внутри группы от 4 до 8%. Кроме того, показано, что при одновременной инфекции различными генотипами ВГВ могут образовываться рекомбинантные генотипы [29, 49].

Вскоре после открытия В. Blumberg и соавт. [22] HBsAg (за что была присуждена Нобелевская премия) удалось определить его серологическую неоднородность. Сегодня известно о наличии общей "a"-детерминанты HBsAg и двух пар взаимоиключающих детерминант d или y, описанных в 1971 г. G. le Bouvier [23], а также w

или r, обнаруженных в 1972 г. W. Bancroft и соавт. [20]. Существование этих детерминант обуславливает формирование 4 серотипов, называемых также субтипами: adw, ayw, adr, ayr. Исследования, проведенные с использованием субтипспецифических антител против HBsAg, позволили определить наличие 9 основных серотипов (adw2, adw4, adr, adrq-, ayw1, ayw2, ayw3, ayw4 и ayr) [26–28]. В табл. 1 приведены данные о преимущественном географическом распространении различных генотипов ВГВ и их сочетании с субтипами HBsAg.

На территории России исследования по изучению распространения отдельных генотипов ВГВ немногочисленны и разрозненны. В Якутии независимо друг от друга отдельными группами авторов проведено определение генотипов ВГВ у пациентов с хроническими формами HB-вирусной инфекции. Так, С.Н. Кузин и соавт. [12] обнаружили присутствие 3 генотипов ВГВ – А и D, каждый из которых был обнаружен в 44% случаев, и С (12%). В подобном исследовании Л.Д. Индеевой [10] также определены эти 3 генотипа, но с несколько другой частотой – D – 38%, А и С – по 24%, а также в 14% случаев выявлено сочетание генотипов А и D. В работе А.В. Зотовой и соавт. [9] показано, что среди эвенков, проживающих на севере Якутии, определен только генотип D ВГВ. В рамках масштабного исследования по определению частоты встречаемости различных генотипов и субгенотипов ВГВ, а также субтипов HBsAg у представителей коренных народностей Сибири было отмечено преобладание генотипа D, тогда как генотипы А и С

Контактная информация:

Кузин Станислав Николаевич, д-р мед. наук, вед. науч. сотр.; e-mail: drkuzin@list.ru

Таблица 1

Географическая распространенность генотипов вируса гепатита В и соотношение между генотипами и серотипами

Генотип ВГВ	HBsAg-серотип	Географическое распространение
A	adw2, ayw1	Северо-Западная Европа, США, Центральная Африка, Индия
B1	adw2	Индонезия, Китай
B2	ayw1	Вьетнам
C	adw2	Восточная Азия
	adrq+	Корея, Китай, Япония, Тайвань
	adrq-, ayr, adr	Полинезия, Корея, Китай, Япония, Австралия, США, Вьетнам
D	ayw2, ayw3	Средиземноморье, Средний Восток
	ayw4	Индия, Россия, США
E	ayw4	Западная Африка
F	adw4q-	Полинезия, США (редко)
	adw2, ayw4	Центральная и Южная Америка
G	adw2	Европа, США (редко)
H	adw4	Центральная и Южная Америка

Таблица 2

Прогнозирование серотипа по аминокислотным остаткам первичной структуры S-белка вируса гепатита В

Позиции аминокислот в HBsAg							прогнозируемый серотип
122	127	134	159	160	177	178	
Lys	Pro	Phe	Ala	Lys	Val	Pro	adw2
Lys	Thr	Phe	Ala	Lys	Val	Pro	adw3
Lys	Leu	Phe	Gly	Lys	Val	Gln	adw4q-
Lys	Pro	Phe	Ala	Arg	Val	Pro	adr
Lys	Pro	Phe	Val	Arg	Ala	Pro	adrq-
Arg	Pro	Phe	Ala	Lys	Val	Pro	ayw1
Arg	Pro	Tyr	Gly	Lys	Val	Pro	ayw2
Arg	Thr	Phe	Gly	Lys	Val	Pro	ayw3
Arg	Leu/Ile	Phe	Gly	Lys	Val	Pro	ayw4
Arg	Pro	Phe	Ala	Arg	Val	Pro	ayr

ВГВ обнаружены в единичных случаях [15]. На территории Чукотского АО Г.В. Михайловская и соавт. [16] также выявили в большинстве случаев генотип D, вместе с тем высока частота обнаружения генотипа С – 25,5%. В рамках этого исследования установлено, что субгенотип D3 и генотип С ВГВ являются эндемичными для коренных жителей Чукотского АО. Р.А. Максютов и А.Н. Канев [14] исследовали 343 образца сывороток крови, полученных от пациентов с хроническим гепатитом В (ХГВ), из Краснодара, Нижнего Новгорода, Санкт-Петербурга, Новосибирска, Хабаровска и Горного Алтая. В 95,8% определен генотип D ВГВ и лишь в 4,2% – генотип С. Е.А. Елпаева и соавт. [5] изучали частоту встречаемости отдельных генотипов ВГВ в Санкт-Петербурге и Перми. Также выявлено преобладание генотипа D ВГВ, который определили с помощью типоспецифических праймеров в 96 и 67% случаев соответственно.

Исследования показали, что, исходя из последовательности участка вирусного генома, кодирующего HBsAg, путем идентификации аминокислот в специфических позициях можно прогнозировать серотип HBsAg [39]. В

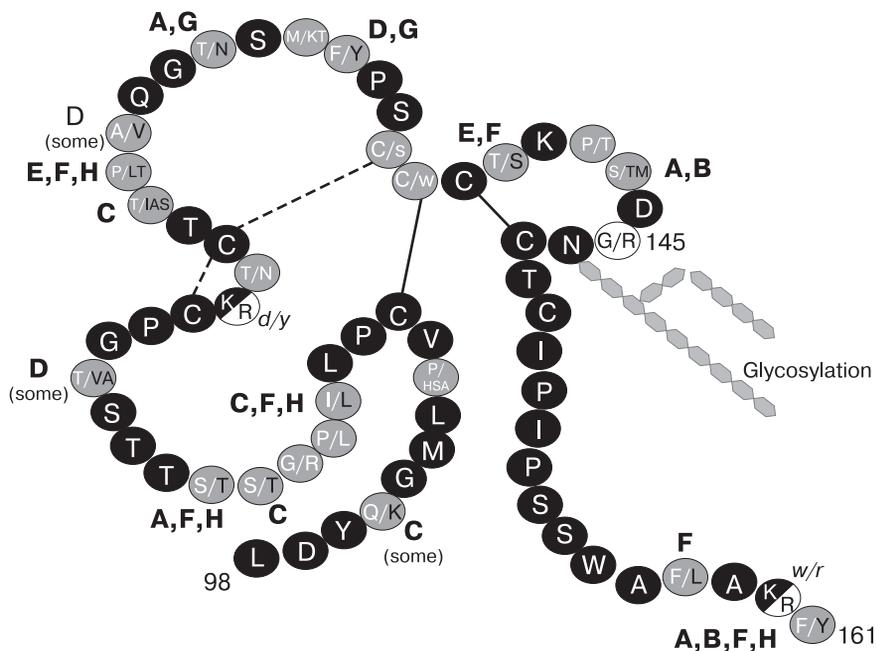
табл. 2 приведены возможные серотипы HBsAg и соответствующие им аминокислотные остатки в определяющих их позициях.

Сегодня хорошо известно о существовании вариантов вируса гепатита В с мутациями в pre-core/core-генах, pre-S/S-генах, гене полимеразы и X-гене. Замены в S-гене представляют особый интерес, так как они приводят к изменениям в аминокислотной последовательности HBsAg и конформационным изменениям "а"-детерминанты, что в свою очередь может повлиять на их связывание нейтрализующими антителами [51]. В результате вирусы, имеющие такие замены, могут ускользать от детекции некоторыми коммерческими тест-системами.

Установлено, что "а"-детерминанта представляет собой участок S-гена между позициями 124–147 аминокислотных остатков (см. рисунок), формируя 3 петли, которые удерживаются цистеиновыми мостиками. "а"-Детерминанта является наиболее иммуногенным эпитопом HBsAg, к которому вырабатываются протективные антитела. Однако накопленная информация о нуклеотидных заменах в S-гене у ускользающих от детекции вариантов ВГВ и не затрагивающих "а"-детерминанту свидетельствует о целесообразности рассмотрения более обширного участка HBsAg с 100-го по 160-й аминокислотный остаток, получившего название "главный гидрофильный регион" (MHR). Сегодня MHR разделяют на 5 антигенных областей, названных HBs1 (100–120-я аминокислотная позиция), HBs2 (120-123), HBs3 (124-137), HBs4 (139-147), HBs5(148-169) [40].

Впервые об обнаружении варианта ВГВ, способного ускользать от иммунитета, индуцированного вакцинацией, сообщили W. Carman и соавт. [25]. В ходе масштабного проспективного исследования было установлено, что у 32 (2%) из 1590 лиц, получивших полный курс вакцинации против гепатита В, в том числе детей, родившихся у женщин с HBs-антигемией, выявлен HBsAg. Дальнейшие исследования показали, что они были заражены вариантом ВГВ, имеющим замену глицина на аргинин в позиции 145 (G145R), возникающей в результате точечной мутации (G → A) в нуклеотидной позиции 587. При изучении обнаруженного варианта ВГВ было обнаружено, что этот мутант стабилен длительное время и сохраняет способность реплицироваться в высоком титре в течение нескольких лет [50]. О его способности к внутрисемейному распространению сообщили С. Ооп и соавт. [43]. ВГВ с заменой G145R также может персистировать в лейкоцитах периферической крови у лиц, не имеющих HBsAg в крови и не вакцинированных против гепатита В [46]. Исследования *in vitro*, посвященные трансфекции человеческих гепатомных клеток мутантом G145R, показали, что эта замена не влияет на репликацию, экспрессию вирусных белков и стабильность его вирусных иРНК. При этом значительно снижается секреция инфекционных частиц и их устойчивость к детергентам по сравнению с диким типом вируса, который становится необходимым для поддержания субпопуляции мутантного вируса. Одной из причин сниженной секреции вариантного вируса может быть нарушение взаимодействия между core-протеином и оболочечными белками, опосредованное аминокислотными остатками E77 и D72 в результате мутации G145R, что приводит к нарушению сборки и секреции зрелых инфекционных вирусных частиц [36]. По данным А.И. Баженова [3], выполнившего исследование в Москве, частота встречаемости варианта ВГВ с мутацией G145R составляет 0,12%.

В настоящее время выявлены и описаны многочисленные варианты ВГВ с заменами в S-гене и аминокислотными заменами в позициях 120, 123, 124, 126, 129, 131, 133, 141 и 144 "а"-детерминанты. В результате проведенных за последние 20 лет исследований были обнаружены ва-



Гипотетическая модель "a"-детерминанты.

Консервативные аминокислотные остатки обозначены черным цветом, неконсервативные остатки – серым. Жирным шрифтом указаны генотипы, наиболее часто ассоциированные с соответствующими аминокислотными заменами (аминокислотные остатки черного цвета) [47].

рианты ВГВ, способные ускользать от иммунитета, индуцированного вакцинацией ("вакцинное ускользание"), не определяемые современными иммуноферментными тест-системами ("диагностическое ускользание") и не отвечающие на лечение традиционными препаратами ("терапевтическое ускользание"). Было показано, что причинами этих проблем, как правило, являлись аминокислотные замены между аминокислотными позициями HBsAg 113 и 157 [30]. S. Seddigh-Tonekaboni и соавт. [48] полагают, что к числу наиболее значимых замен в HBsAg следует отнести G145R, K141E, T131I, а также инсерцию трех аминокислот между остатками 123 и 124, поскольку они изменяют антигенную структуру HBsAg. Помимо конформационных изменений HBsAg, к проблемам с его обнаружением может привести снижение секреции как вирионов, так и самого HBsAg. N. Khan и соавт. [37] установили, что замена R169P ответственна за подавление секреции вирионов и субвирусных частиц, замена I110M блокирует вирионную секрецию, а замена G119E нарушает секрецию вирионов, так же как и распознавание HBsAg моноклональными антителами. В то же время дополнительная мутация M133T восстанавливает секрецию вирионов, нарушенную мутациями I110M и G119E.

По мнению J. Echevarria и A. Avellon [30], распространенность подобных генетически измененных вариантов ВГВ, особенно связанных с "диагностическим ускользанием", среди лиц с хроническими формами гепатита В может достигать 6–12%. Согласно получившей широкое распространение точки зрения, к их ускоренному распространению может привести действие такого мощного селективного фактора, как вакцинопрофилактика гепатита В, в первую очередь среди лиц, прошедших полный курс иммунизации [34].

Распространение вариантов ВГВ, отличающихся от диких штаммов, было изучено преимущественно в африканских и азиатских странах. В настоящее время информация по Европейскому региону находится в стадии накопления. По предварительным оценкам, распространенность ВГВ с нуклеотидными заменами в S-гене и

аминокислотными заменами в HBsAg в общей популяции, за исключением Средиземноморского региона, является относительно низкой. В Западной Европе и США распространение генетически измененных вариантов ВГВ ограничено главным образом группами риска. В основном это инфицированные дети после полного курса вакцинации, родившиеся у женщин с HBsAg и HBeAg, а также пациенты после трансплантации печени [52]. По мнению С. Ооп и соавт. [42] и W. Carman [24], варианты ВГВ, связанные с "вакцинным ускользанием", ответственны за развитие только 0,2–4,6% случаев инфекции у новорожденных. M. Ghany и соавт. [31] и U. Protzer-Knolle и соавт. [45] отметили, что значительное количество (до 40%) пациентов, перенесших трансплантацию печени и прошедших лечение HBV Ig, имели варианты ВГВ с заменами, обеспечивающими "вакцинное ускользание". В. Weber и соавт. [52] и F. Alhababi и соавт. [19], исследуя образцы от лиц с наличием только анти-HBcore в крови, выявили в 0,7–1% случаев варианты ВГВ с заменами, соответствующими "диагностическому ускользанию".

В России исследования по данной проблеме начаты в последние годы и уже получены первые результаты. Одним из наиболее привлекательных регионов с точки зрения обнаружения вариантов ВГВ, отличающихся от диких штаммов, является Якутия. Так, С.Н. Кузин и соавт. [12] изучили гетерогенность preS1/preS2/S-генов у естественно встречающихся вариантов ВГВ. Были определены нуклеотидные последовательности 16 штаммов ВГВ по этому региону. В результате были выявлены аминокислотные замены, ассоциировавшиеся ранее с "диагностическим ускользанием". В главном гидрофильном регионе S-белка выявлены замены Q101R, I110L, V118A и M133I. Замены Q101R и I110L ранее были обнаружены K. Weinberg и соавт. [53] в образцах сывороток крови при отрицательном результате исследований на наличие HBsAg в ИФА. Замену M133I описали J. Echevarria и A. Avellon [30] при получении различающихся результатов детекции HBsAg разными иммуноферментными тест-системами. В С-концевом участке S-белка обнаружены замены, описанные в комбинации с другими заменами при отрицательных результатах исследований на наличие HBsAg [53], среди них V184A, M198I, P203R, Y206C, S207R и S207N.

В подобном исследовании, выполненном во Владимирской области, Е.Е. Заботина [8] в изолятах, выделенных от пациентов с хроническим гепатитом В ($n = 27$), в главном гидрофильном регионе (MHR) и С'-конце S-белка обнаружила аминокислотные замены (M133I, S132T, G145A, P217L, V184A и S207N), связанные с "вакцинным" и "диагностическим ускользанием", а также замену P127H, которая не позволяет идентифицировать серотип HBsAg по первичной аминокислотной последовательности MHR S-белка. Н.Н. Забелин [6], изучая гетерогенность ВГВ в Москве и Кабардино-Балкарии, также обнаружил ряд аминокислотных замен, связанных с "диагностическим" и "вакцинным ускользанием". В изолятах, выделенных от пациентов с хроническим гепатитом В в Москве ($n = 30$), были обнаружены следующие замены: Y134N в сочетании с L109Q (замена Y134N описана J. Echevarria

и A. Avellon [30] при отрицательном результате исследований на наличие HBsAg); S113T и P127T (локализируются в MHR) и S174N, V184A, S207R, S207N, G185E (локализируются в С-концевом участке S-белка), которые описаны К. Weinberger и соавт. [53], также при отрицательных результатах исследований на наличие HBsAg в ИФА. В изолятах, полученных от пациентов из Кабардино-Балкарии ($n = 16$), выявлена лишь одна замена, связанная с "диагностическим ускользанием" – M133T.

Сообщения о пациентах с труднодиагностируемой с помощью иммуноферментных тест-систем HB-вирусной инфекцией стали появляться в конце 90-х годов XX века [21, 32, 38]. Общим для всех сообщений был факт отсутствия HBsAg в крови пациентов при наличии ДНК ВГВ. В результате обобщений установили, что на тот период относительно способности различных иммуноферментных тест-систем определять HBsAg мутантные варианты ВГВ, т. е. имеющие аминокислотные замены в MHR, можно разделить на 2 категории, определяющие снижение диагностических возможностей тест-систем; невозможность выявления HBsAg.

Было показано, что относительно коммерческих тест-систем, в которых в качестве иммуносорбента используются поликлональные антитела, большинство мутантных вариантов ВГВ попадет во вторую категорию, или дефектов чувствительности не будет вовсе. HBsAg, имеющий наиболее часто встречающуюся замену G145R, с помощью ИФА на основе моноклональных антител, связывающихся с эпитопами второй петли "а"-детерминанты, определялся с пониженной чувствительностью [49]. В исследованиях F. Alhababi и соавт. [19] и D. Jeantet и соавт. [35] было показано, что при низких концентрациях HBsAg мутантного варианта ВГВ, например у доноров крови, возможен ложноотрицательный результат даже в том случае, если тест-система способна определять рекомбинантную форму HBsAg соответствующего мутанта.

Исследования по обнаружению вариантов ВГВ с аминокислотными заменами в HBsAg проводятся и в России. Специалистами НИИ скорой помощи им. Н.В. Склифосовского и НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи РАМН [1, 2, 18] изучено влияние аминокислотных замен S143L и G145R на диагностические возможности тест-систем. В результате было обнаружено, что некоторые иммуноферментные тест-системы, широко применявшиеся в период проведения работы, имели низкий диагностический потенциал в отношении вариантов ВГВ с данными аминокислотными заменами. Авторами отмечено, что низкий диагностический потенциал имели тест-системы, основанные исключительно на моноклональных антителах.

Особый интерес представляют результаты исследования способности поствакцинальных анти-HBs связывать варианты HBsAg, содержащие аминокислотные замены S143L и G145R. А.И. Баженов [3] в рамках той же работы провел сравнительные исследования с использованием анти-HBs, выделенных от лиц, привитых вакцинами "Энжерикс" и "Твинрикс", и анти-HBs, полученных от пациентов, перенесших острый гепатит В. Поствакцинальные антитела эффективно взаимодействовали с HBsAg как дикого штамма, так и HBsAg с заменой S143L. В то же время поствакцинальные антитела практически не связывали HBsAg, содержащий замену G145R. По мнению авторов исследования, эти данные свидетельствуют о том, что вакцинопрофилактика гепатита В с использованием данных вакцин, с одной стороны, не защищает от заражения вариантом ВГВ, содержащего замену G145R, с другой стороны, является мощным селективным фактором, способствующим распространению в популяции этого варианта ВГВ.

Исследование, посвященное оценке диагностических возможностей иммуноферментных тест-систем, выполнено в рамках совместной работы сотрудниками НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова РАМН и НИИ вирусологии им. Д.И. Ивановского Минздравсоцразвития России [7]. С этой целью определяли концентрацию HBsAg в 31 образце сывороток крови, содержащих HBsAg (15 от доноров Нальчика, 10 от пациентов с суперинфекцией ВГВ+ВГД и 6 от больных с хроническим вирусным гепатитом В, Москва), путем параллельного титрования исследуемых образцов и отраслевого стандартного образца (ОСО). Титрование образцов выполняли путем 10-кратного разведения до исчезновения положительного сигнала. Сравнивали с данными разведения ОСО, выполненного в соответствии с инструкцией изготовителя. Использованы тест-системы Roche Elecsys HBsAg ("Хоффман ля Рош", Швейцария); Abbott AxSYM HBsAg (V2) ("Эббот", США); Cobas Core HBsAg II EIA ("Хоффман ля Рош", Швейцария) и ДС-ИФА-HBsAg (НПО "Диагностические системы", Россия). Исследования с тремя иммуноферментными тест-системами – Roche Elecsys HBsAg, Abbott AxSYM HBsAg (V2), Cobas Core HBsAg II EIA – выполняли на автоматических ИФА-анализаторах Elecsys 2010, AxSYM и Cobas Core II.

В результате для 4 образцов от инфицированных доноров (Нальчик) зафиксированы различия в конечной концентрации HBsAg, составляющие 27–44,1 раза. В двух случаях ВГВ принадлежал к генотипу А, а максимальные концентрации HBsAg выявлены в тесте Abbott AxSYM HBsAg (V2) и превышали минимальные, определенные в тесте ДС-ИФА-HBsAg, в 40,2 и 27 раз соответственно. Различия в чувствительности, по мнению авторов, могут быть связаны с заменами в одном из образцов T114K, M133T. Авторы также высказывают предположение о том, что такая разница в чувствительности обусловлена принадлежностью ВГВ в этих образцах к генотипу А (серотип ad), относительно редко встречающемуся на территории России.

Еще для двух образцов из этой группы выявлены различия в 22,1 и 44,1 раза. В одном случае максимальная концентрация HBsAg выявлена в тесте Abbott AxSYM HBsAg (V2), в другом – в Roche Elecsys HBsAg. Минимальные значения получены в тест-системах Cobas Core HBsAg II EIA и ДС-ИФА-HBsAg. Важно отметить, что аминокислотные последовательности HBsAg в данных образцах были идентичными с теми, для которых значимые различия в конечной концентрации HBsAg не выявлены. Аналогичная ситуация сложилась для еще одного образца от пациентов с ХГВ (Москва), для которого различия составили 30,8 раза. Полученные результаты дали основания сделать вывод о том, что не только аминокислотные замены в пределах MHR и "а"-детерминанты могут обусловить различия в диагностических возможностях иммуноферментных тест-систем, но и замены в preS1, preS2, N-, С-концах S-белка, о чем сообщалось ранее [33, 41, 53].

Проблема диагностического ускользания сделала актуальной разработку таких иммуноферментных тест-систем, которые позволяли бы определять максимально возможное количество из известных вариантов HBsAg, содержащих аминокислотные замены. В последние годы такие работы проводятся весьма активно основными создателями тест-систем, как зарубежными, так и отечественными. Главным образом разработчики тест-систем пошли по пути оптимального подбора иммуносорбента, т. е. моноклональных или поликлональных антител к HBsAg, которые сорбируются на твердую фазу. Необходимо отметить, что в этом направлении достигнуты значительные успехи. В последних исследованиях, посвященных сравнению диагностической

значимости различных тест-систем для детекции HBsAg, авторы констатировали отсутствие сколько-нибудь значительных различий в чувствительности использованных диагностикумов [11, 13]. Так, С.Н. Кузин и соавт. [13] выполнили сравнительные постановки с использованием 7 тест-систем: Bio-Rad Monolisa HBsAg ULTRA, ("Bio-Rad", США); ДС-ИФА-HBsAg (НПО "Диагностические системы", Россия); Вектогеп-HBs-антиген (ЗАО "Вектор-Бест", Россия); Гепаскан HBsAg (БТК "Биосервис", Россия); ИФА-HBsAg ("Эколаб", Россия); Roche Elecsys HBsAg ("Хоффман ля Рош", Швейцария); Abbott Axsym HBsAg (V2) ("Эббот", США). Для данных постановок была создана специальная панель из 11 образцов, содержащих HBsAg, из них 10 образцов имели аминокислотные замены в области МНР, 8 образцов имели по одной замене, среди которых: S132T, Q129H, P127H (2 образца), G145A, M133I (2 образца), L109R. В двух образцах выявлены по 2 замены: S113T и P127T. Как было отмечено выше, значительные различия в итоговых концентрациях HBsAg, определенных всеми тест-системами путем параллельного титрования с ОСО, выявлены не были. Следует отметить, что данные исследования выполнены на 3 года позднее, чем исследования Н.Н. Забелина и соавт. [7]. Можно утверждать, что современные тест-системы продолжают совершенствоваться и их диагностические возможности увеличиваются. Вместе с тем очевидно, что эта проблема весьма актуальна и полученные авторами данного исследования результаты не дают оснований считать ее решенной. Такие исследования необходимо продолжать, особенно с учетом того обстоятельства, что чувствительность тест-систем зависит не только от аминокислотных замен в МНР.

В настоящее время надежные алгоритмы выявления генетических вариантов ВГВ не существуют. Обычно поиск осуществляется с помощью параллельных исследований в различных тест-системах, как это было выполнено А.И. Баженовым [3], или прибегают к секвенированию генома ВГВ в случайно отобранных образцах сывороток крови, содержащих HBsAg. Проблема таких подходов заключается в том, что с их помощью невозможно выявить те варианты ВГВ, которые серологическими методами не определяются, т. е. так называемую скрытую HB-вирусную инфекцию. К ней относят случаи выявления ДНК ВГВ при отсутствии HBsAg в крови пациента. В настоящее время работа по этому направлению исследований активно ведется и в России и в мире [4]. В то же время не совсем ясно, насколько то, что сегодня трактуется как скрытая HB-вирусная инфекция, связано с генетической вариабельностью ВГВ в целом и с S-геном в частности.

Можно констатировать, что Россия сейчас находится в периоде активного накопления фактического материала, в исследования по этой проблематике привлечены значительные силы из различных научных учреждений страны и продолжение этой работы весьма актуально. Очевидно, необходимо продолжать исследования по изучению распространения различных вариантов ВГВ в разных регионах России. Также важно с учетом полученной информации проводить мониторинг диагностических возможностей тест-систем для детекции HBsAg, для чего необходимо создавать специальные панели образцов, содержащих HBsAg с аминокислотными заменами, которые выявлены в ходе исследований. Эпидемиологическая ситуация по гепатиту В в России в настоящее время неоднозначна. С одной стороны, за счет реализации программы вакцинопрофилактики гепатита В удалось существенно снизить заболеваемость острым гепатитом В, а с другой – показатели заболеваемости ХГВ остаются на высоком уровне [17]. Действие

такого мощного селективного фактора, как вакцинация, обуславливает медленный, но неуклонный рост удельного веса минорных ускользающих вариантов ВГВ относительно основного дикого варианта. Очевидна необходимость интенсификации исследований в России по данной проблеме.

ЛИТЕРАТУРА

1. Баженов А.И., Нетесова И.Г., Мануйлов В.А. и др. Выявление мутации G145R и необычного субтипа adw3 среди серологических вариантов ВГВ, отобранных по дефектам чувствительности моноклональных анти-HBs конъюгатов. В кн.: Материалы VI Всероссийской научно-практической конференции "Вирусные гепатиты – проблемы эпидемиологии, диагностики, лечения и профилактики". Москва, 24–26 мая 2005. М.; 2005.
2. Баженов А.И., Годков М.А., Лапина Н.Е. и др. Сравнительная оценка способности коммерческих иммунодиагностикумов выявлять HBsAg "ускользающих" мутантов вируса гепатита В. В кн.: Материалы XV Международной конференции "Новые информационные технологии в медицине, биологии, фармакологии и экологии". Украина, Гурзуф, 1–10 июня 2007: 168–9.
3. Баженов А.И. Совершенствование методов иммунодетекции HBsAg-мутантов вируса гепатита В: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. М.; 2009.
4. Герман Е.Н., Маевская М.В., Ивашкин В.Т. Оценка роли скрытой инфекции вирусом гепатита В на течение заболевания у больных с хронической инфекцией вирусом гепатита С. Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. 2010; 20(1): Приложение 35: – Материалы 15-й Российской конференции "Гепатология сегодня". М.; 2010: 31.
5. Елтаева Е.А., Писарева М.М., Эсауленко Е.В. и др. Молекулярные особенности вируса гепатита В в Северо-Западной и Центральной России. В кн.: Материалы II Ежегодного Всероссийского конгресса по инфекционным болезням. Москва, 29–31 марта 2010. М.; 2010: 105.
6. Забелин Н.Н. Генетическая вариабельность вируса гепатита В по PreS1/PreS2/S-генам у пациентов с хронической HB-вирусной инфекцией. Автореф. дис. ... канд. мед. наук. М.; 2009. 24 с.
7. Забелин Н.Н., Кузина Л.Е., Кудрявцева Е.Н. и др. Влияние изменений аминокислотной последовательности "а"-детерминанты на диагностические возможности тест-систем для детекции HBsAg. Вопросы вирусологии. 2010; 6: 28–31.
8. Заботина Е.Е. Эпидемиологические и молекулярно-генетические аспекты гепатитов В и С (по материалам Владимирской области): Автореф. дис. ... канд. мед. наук. М.; 2011. 24 с.
9. Зотова А.В., Попова О.Е., Кюрегян К.К. и др. Распространенность вирусных гепатитов В и С среди оленеводов-кочевников в Республике Саха (Якутия). В кн.: Материалы VII Российской научно-практической конференции с международным участием "Вирусные гепатиты – эпидемиология, диагностика, лечение и профилактика". Москва, 29–31 мая 2007. М.; 2007: С. 28–9.
10. Индеева Л.Д. Эпидемиологическая и клинико-морфологическая характеристика гепатитов В и С и гетерогенность их возбудителей в Республике Саха (Якутия): Автореф. дис. ... канд. мед. наук. М.; 2010. 25 с.
11. Кудрявцева Е.Н., Заботина Е.Е., Корабельникова М.И. и др. Диагностические возможности коммерческих тест-систем при определении HBsAg с различными заменами в области главного гидрофильного региона. В кн.: Сборник трудов VII Всероссийской научно-практической конференции с международным участием "Молекулярная диагностика-2010". М.; 2010. т. 1: 236–9.
12. Кузин С.Н., Забелин Н.Н., Самохвалов Е.И. и др. Генетическое разнообразие вируса гепатита В на территории Республики Саха (Якутия). Эпидемиология и вакцинопрофилактика. 2008; 5: 10–5.
13. Кузин С.Н., Заботина Е.Е., Забелин Н.Н. и др. Гетерогенность вируса гепатита В и диагностические возможности современных тест-систем, предназначенных для детекции HBsAg. Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. 2012; 1: 68–75.
14. Максютов Р.А., Канев А.Н. Генетическая вариабельность вируса гепатита В в регионах РФ. В кн.: Материалы II Ежегодного Всероссийского конгресса по инфекционным болезням. Москва, 29–31 марта 2010. М.; 2010: 187.

15. Мануйлов В.А., Чуб Е.В., Нетесова И.Г. и др. Различная встречаемость субгенотипов вируса гепатита В и субтипов HBsAg у коренного населения Сибири. В кн.: Материалы VII Российской научно-практической конференции с международным участием "Вирусные гепатиты – эпидемиология, диагностика, лечение и профилактика". М.; 2007: 45–6.
16. Михайловская Г.В., Карандашова И.В., Неверов А.Д. и др. Молекулярная эпидемиология вирусных гепатитов В и D на территории Чукотского АО. В кн.: Материалы II Ежегодного Всероссийского конгресса по инфекционным болезням. Москва, 29–31 марта 2010. М.; 2010: 206.
17. Мукомолов С.Л., Левакова И.А., Васильева В.А., Сталевская А.В. Современные эпидемиологические особенности вирусного гепатита В. В кн.: Материалы VIII Российской научно-практической конференции с международным участием "Вирусные гепатиты – эпидемиология, диагностика, лечение и профилактика". М.; 2009: 19–20.
18. Суслов А.П., Баженов А.И., Эльгорт Д.А. и др. Обнаружение серологически значимых мутаций вируса гепатита В (ВГВ) методом скрининга по дефектам моноклональных анти-HBs конъюгатов (СМДК). В кн.: Материалы VI Всероссийской научно-практической конференции "Вирусные гепатиты – проблемы эпидемиологии, диагностики, лечения и профилактики". Москва, 24–26 мая 2005. М.; 2005: 325–6.
19. Alhababi F., Sallman T.A., Tong C.Y.W. The significance of anti-HBc only in the clinical virology laboratory. J. Clin. Virol. 2003; 27: 162–9.
20. Bancroft W.H., Mundon F.K., Russell P.K. Detection of additional antigenic determinants of hepatitis B antigen. J. Immunol. 1972; 109: 842–8.
21. Banerjee K., Gupta R.C., Bisht R. et al. Identification of a novel surface mutant of hepatitis B virus in a seronegative chronic liver disease patient. Virus Res. 1999; 65: 103–9.
22. Blumberg B.S., Alter H.J., Vismish S. A new antigen in leukemia sera. J. A. M. A. 1965; 191: 541–6.
23. le Bouvier G.L. The heterogeneity of Australia antigen. J. Infect. Dis. 1971; 123: 671–5.
24. Carman W.F. Infections associated with medical intervention: hepatitis viruses and HGV. Br. Med. Bull. 1998; 54: 731–48.
25. Carman W.F., Zanetti A.R., Karayiannis P. et al. Vaccine-induced escape mutant of hepatitis B virus. Lancet. 1990; 336: 325–9.
26. Courouce A.M., Holland P.V., Muller J.Y., Soulier J.P. HBs antigen subtypes. Bibliotheca Haematol. 1976; 42: 1.
27. Courouce A.M., Lemaire J.M., Roux J.F. New hepatitis B surface antigen subtypes inside the ad category. Vox Sang. 1978; 35: 304–8.
28. Courouce A.M., Plaçon A., Soulier J.P. et al. Distribution of HBsAg subtypes in the world. Vox Sang. 1983; 44: 197–211.
29. Cui C., Shi J., Hui L. et al. The dominant hepatitis B virus genotype identified in Tibet is a C/D hybrid. J. Gen. Virol. 2002; 83: 2773–77.
30. Echevarria J.M., Avellon A. Hepatitis B virus genetic diversity. J. Med. Virol. 2006; 78: S36–42.
31. Ghany M.G., Ayola B., Villamil F.G. et al. Hepatitis B virus S mutants in liver transplant recipients who were reinfected despite hepatitis B immune globulin prophylaxis. Hepatology. 1998; 27: 213–22.
32. Grethe S., Monazahian M., Bohme I. et al. Characterization of unusual escape variants of hepatitis B virus isolated from a hepatitis B surface antigen-negative subject. J. Virol. 1998; 72: 7692–96.
33. Hou J., Wang Z., Cheng J. et al. Prevalence of naturally occurring surface gene variants of hepatitis B virus nonimmunized surface antigen-negative Chinese carriers. J. Hepatol. 2001; 34: 1027–34.
34. Hsu H.Y., Chang M.H., Ni Y.H. et al. Survey of hepatitis B surface variant infection in children 15 years after a nationwide vaccination programme in Taiwan. Gut. 2004; 53: 1499–503.
35. Jeantet D., Chemin I., Mandrand B. et al. Cloning and expression of surface antigens from occult chronic hepatitis B virus infections and their recognition by commercial detection assays. J. Med. Virol. 2004; 73: 508–15.
36. Kalinina T., Iwanski A., Will H. et al. Deficiency in virion secretion and decreased stability of the hepatitis B virus immune escape mutant G145R. Hepatology. 2003; 38: 1274–81.
37. Khan N., Guarneri M., Ahn S.H. et al. Modulation of hepatitis B virus secretion by naturally occurring mutations in the S gene. J. Virol. 2004; 78: 3262–70.
38. Koyanagi T., Nakamura M., Sakai H. et al. Analysis of HBs antigen negative variant of hepatitis B virus: unique substitutions, Glu129 to Asp and Gly145 to Alain the surface antigen gene. Med. Sci. Monit. 2000; 6: 1165–69.
39. Norder H., Hammes B., Lofdah S. et al. Comparison of the amino acid sequences of nine different serotypes of hepatitis B surface antigen and genomic classification of the corresponding hepatitis B virus strains. J. Gen. Virol. 1992; 73: 1201–08.
40. Norder H., Courouce A.M., Coursaget P. et al. Genetic diversity of hepatitis B virus strains derived worldwide: genotypes, subgenotypes, and HBsAg subtypes. Intervirology. 2004; 47: 289–309.
41. Olinger C.M., Weber B., Otegbayo J.A. et al. Hepatitis B virus genotype E surface antigen detection with different immunoassays and diagnostic impact of mutations in the preS/S gene. Med. Microbiol. Immunol. 2007; 196: 247–52.
42. Oon C.J., Lim G.K., Ye Z. et al. Molecular epidemiology of hepatitis B virus vaccine variants in Singapore. Vaccine. 1995; 13: 699–702.
43. Oon C.J., Chen W.N., Goo K.S. et al. Intra-familial evidence of horizontal transmission of hepatitis B virus surface antigen mutant G145R. J. Infect. 2000; 41: 260–64.
44. Osioy C., Giles E., Tanaka Y. et al. Molecular evolution of hepatitis B virus over 25 years. J. Virol. 2006; 80: 10307–14.
45. Protzer-Knolle U., Naumann U., Bartenschlager R. et al. Hepatitis B virus with antigenically altered hepatitis B surface antigen is selected by high-dose hepatitis B immune globulin after liver transplantation. Hepatology. 1998; 27: 254–63.
46. Pumpens P., Grens E., Nassal M. Molecular epidemiology and immunology of hepatitis B virus infection – an update. Intervirology. 2002; 45: 218–32.
47. Schaefer S. Hepatitis B virus: significance of genotypes. J. Viral. Hepat. 2005; 12: 111–24.
48. Seddigh-Tonekaboni S., Waters J.A., Jeffers S. et al. Effect of variation in the common "a"-determinant on the antigenicity of hepatitis B surface antigen. J. Med. Virol. 2000; 60: 113–21.
49. Wang Z., Liu Z., Zeng G. et al. A new intertype recombinant between genotypes C and D of hepatitis B virus identified in China. J. Gen. Virol. 2005; 86: 985–90.
50. Weber B. Diagnostic impact of the genetic variability of the hepatitis B virus surface antigen gene. J. Med. Virol. 2006; 78: 59–65.
51. Weber B. Genetic variability of the S gene of hepatitis B virus: clinical and diagnostic impact. J. Clin. Virol. 2005; 32: 102–12.
52. Weber B., Melchior W., Gehrke R. et al. Hepatitis B virus markers in anti-HBc only positive individuals. J. Med. Virol. 2001; 64: 312–19.
53. Weinberger K.M., Bauer T., Bohm S. et al. High genetic variability of the group-specific "a"-determinant of hepatitis B virus surface antigen (HBsAg) and the corresponding fragment of the viral polymerase in chronic virus carriers lacking detectable HBsAg in serum. J. Gen. Virol. 2000; 81: 1165–74.

Поступила 25.04.12