

НАУЧНАЯ СТАТЬЯ

DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-92>

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2022



Распространенность маркеров вирусного гепатита В среди доноров крови в Гвинейской Республике

Бумбали С.^{1,2}, Балде Т.А.Л.², Семенов А.В.³, Останкова Ю.В.⁴, Серикова Е.Н.⁴, Найденова Е.В.⁵, Валутите Д.Э.⁴, Щемелев А.Н.⁴, Зуева Е.Б.⁴, Эсауленко Е.В.⁴, Тотолян Арег А.⁴

¹Международный исследовательский центр по тропическим инфекциям в Гвинее, Нзерекоре, Гвинейская Республика;

²Исследовательский институт прикладной биологии Гвинее, Киндиа, Гвинейская Республика;

³ФБУН Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (Роспотребнадзор), 630559, Новосибирская область, Кольцово, Россия;

⁴ФБУН «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Пастера» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (Роспотребнадзор), 197101, Санкт-Петербург, Россия;

⁵ФКУЗ Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (Роспотребнадзор), 410005, Саратов, Россия

Введение. Проблема трансфузионной безопасности в отношении парентеральных вирусных гепатитов до настоящего времени сохраняет свою актуальность. Вирусный гепатит В (ГВ) остается наиболее распространенной вирусной инфекцией, передаваемой при трансфузиологических манипуляциях. Одной из естественных фаз течения хронического вирусного гепатита В (ХГВ) является оккультный гепатит (ОкГВ), характеризующийся недетектируемым уровнем HBsAg (независимо от содержания иных серологических маркеров) при наличии ДНК ВГВ в ткани печени и крайне низким уровнем вирусной нагрузки в крови вплоть до неопределяемого. В Гвинейской Республике, как и в большинстве государств континента, профилактика трансфузионной передачи ВГВ посредством скрининга доноров до сих пор основывается на изолированном серологическом определении HBsAg, в связи с чем ОкГВ сохраняется в качестве потенциальной угрозы для гемотрансфузионной безопасности. Определение ДНК ВГВ служит надёжной профилактической мерой против передачи вируса от доноров с HBsAg-негативным ГВ, особенно в высокэндемичных регионах. В связи с этим для обоснования рекомендаций по повышению безопасности крови на фоне значительной частоты встречаемости ВГВ на территории Гвинейской Республики проведено настоящее исследование.

Цель работы – оценка распространенности серологических и молекулярно-генетических маркеров вирусного гепатита В (ГВ) у доноров крови в Гвинейской Республике.

Материал и методы. Исследованы 250 образцов крови, полученные от доноров, проживающих на территории г. Конакри (Гвинейская Республика). В пробах определяли наличие серологических (поверхностный антиген – HBsAg; антитела (АТ) к поверхностному (анти-HBs IgG) и ядерному (коровому) (анти-HBc IgG) антигенам) и молекулярно-генетических (ДНК) маркеров этой инфекции.

Результаты и обсуждение. Встречаемость маркеров вирусного ГВ составила 83,2%; HBsAg обнаружен у 16,4% исследуемых. Частота его выявления оказалась более высокой среди мужчин (19,55%) по сравнению с женщинами (8,45%), относительный риск инфицирования вирусом с формированием HBsAg-положительной хронической формы заболевания у лиц мужского пола также достоверно выше. Значение распространенности ДНК возбудителя в исследуемой группе составило 30,4%; при этом 15,6% приходится на ОкГВ. Показано преобладание данного варианта течения инфекционного процесса у доноров 30–49 лет (24,78%). Среди лиц моложе 30 лет встречаемость ОкГВ оказалась ниже (8,73%), а в возрасте от 50 лет и старше оккультная форма ГВ не выявлена. На основании филогенетического анализа 76 изолятов вируса установлено преобладание в исследованной группе генотипа Е (85,53%).

Случаи выявления ДНК патогена имели место у HBsAg-негативных доноров крови при наличии АТ анти-HBs IgG ($n = 4$), а также на фоне одновременного присутствия анти-HBs IgG и анти-HBc IgG ($n = 7$). При этом показатель вирусной нагрузки превышал 200 МЕ/мл. В ходе секвенирования в каждом образце обнаружены эскаре-мутации, способствующие ускользанию вируса от диагностики при скринировании на HBsAg.

Заключение. Оценка распространенности маркеров ГВ у доноров крови, определение генотипов и клинически значимых мутаций вариантов вируса необходимо для обеспечения биологической и трансфузионной безопасности при медицинских манипуляциях, контроля и предотвращения распространения данного инфекционного агента.

Ключевые слова: вирусный гепатит В (ГВ); оккультный вирусный гепатит В (ОкГВ); вирус гепатита В (ВГВ); серологические маркеры; молекулярно-биологические маркеры; лабораторная диагностика; инфекционная безопасность крови; доноры крови; Гвинейская Республика

Для цитирования: Бумбали С., Балде Т.А.Л., Семенов А.В., Останкова Ю.В., Серикова Е.Н., Найденова Е.В., Валутите Д.Э., Щемелев А.Н., Зуева Е.Б., Эсауленко Е.В., Тотолян Арег А. Распространенность маркеров вирусного гепатита В среди доноров крови в Гвинейской Республике. *Вопросы вирусологии*. 2022; 67(1): 60-68. DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-92>

Для корреспонденции: Останкова Юлия Владимировна, канд. биол. наук, заведующая лабораторией иммунологии и вирусологии ВИЧ-инфекции, старший научный сотрудник лаборатории молекулярной иммунологии, ФБУН «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Пастера» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (Роспотребнадзор), 197101, Санкт-Петербург, Россия. E-mail: shenna1@yandex.ru

Участие авторов: Бумбали С. – планирование и организация исследований, доставка образцов; Балде Т.А.Л. – проведение исследований, доставка образцов; Семенов А.В. – организация исследований, написание текста статьи; Останкова Ю.В. – проведение исследований, подбор литературы, статистическая обработка данных, подготовка иллюстративного материала, написание текста статьи; Серикова Е.Н. – проведение исследований; Найденова Е.В. – проведение исследований, написание текста статьи; Валутите Д.Э. – проведение исследований; Щемелев А.Н. – проведение исследований; Зуева Е.Б. – проведение исследований; Эсауленко Е.В. – руководство исследованиями, написание текста статьи; Тотолян Арег А. – общее руководство, написание текста статьи.

Финансирование. Исследования проводились в рамках распоряжений Правительства Российской Федерации N 1448-р от 25.07.2015, N 2904-р от 22.12.2017 и N 2985-р от 14.11.2020 г. о российско-гвинейском научно-техническом сотрудничестве в области эпидемиологии, профилактики и мониторинга бактериальных и вирусных инфекций в Гвинейской Республике.

Благодарность. Авторский коллектив выражает благодарность за помощь в сборе образцов биологического материала руководству и сотрудникам регионального госпиталя г. Конакри (Сонакру) (Гвинейская Республика).

Конфликт интересов. Авторы подтверждают отсутствие конфликта интересов.

Этическое утверждение. Исследование проводилось при информированном согласии пациентов. Протокол исследования одобрен решением Национального этического комитета Министерства здравоохранения Гвинейской Республики (Протокол № 129/CNERS/16 от 31.08.2015 г.).

Поступила 23.12.2021

Принята в печать 27.01.2022

Опубликована 28.02.2022

ORIGINAL ARTICLE

DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-92>

Prevalence of viral hepatitis B markers among blood donors in the Republic of Guinea

Sanaba Boumbaly^{1,2}, Thierno Amadu Labe Balde², Alexandr V. Semenov³, Yulia V. Ostankova⁴, Elena N. Serikova⁴, Ekaterina V. Naidenova⁵, Diana E. Valutite⁴, Alexandr N. Shchemelev⁴, Elena B. Zueva⁴, Elena V. Esaulenko⁴, Areg A. Totolian⁴

¹International Tropical Infections Research Center, Nzérékoré, Republic of Guinea;

²Research Institute of Applied Biology of Guinea, Kindia, Republic of Guinea;

³FSBI State Scientific Center of Virology and Biotechnology «Vector» of the Federal Service for Surveillance of Consumer Rights Protection and Human Wellbeing (Rospotrebnadzor), 630559, Novosibirsk Region, Kol'tsovo, Russia;

⁴FBSI «Saint Petersburg Pasteur Research Institute of Epidemiology and Microbiology» of the Federal Service for Surveillance of Consumer Rights Protection and Human Welfare (Rospotrebnadzor), 197101, Saint Petersburg, Russia;

⁵FSHI Russian Research Anti-Plague Institute «Microbe» of the Federal Service for Surveillance of Consumer Rights Protection and Human Welfare (Rospotrebnadzor), 410005, Saratov, Russia

Introduction. The problem of transfusion safety in relation to parenteral viral hepatitis still remains relevant. Viral hepatitis B (HB) remains the most common viral infection transmitted through transfusion procedures. One of the natural phases of chronic hepatitis B (CHB) is occult hepatitis B infection (OBI), characterized by an undetectable HBsAg (regardless of the other serological markers content) in the presence of hepatitis B virus (HBV) DNA in the liver tissue and an extremely low, up to undetectable, level of viral load in the blood. In the Republic of Guinea, as in most countries on the continent, the prevention of HBV transmission through transfusion is still based on HBsAg serological testing of donors only. In this connection, OBI remains as a potential threat to blood transfusion safety. Detection of HBV DNA is a reliable preventive measure against transmission of the virus from donors with HBsAg-negative HBV infection, especially in highly endemic regions. In this regard, the study was conducted to substantiate recommendations for improving blood safety against the background of significant HBV prevalence in the Republic of Guinea.

The **aim** of the work was the evaluation of serological and molecular markers of HBV infection in blood donors in the Republic of Guinea.

Material and methods. We examined 250 blood samples obtained from donors living in Conakry, Republic of Guinea. Samples were tested for the presence of serological (surface antigen, HBsAg; antibodies (ABs) to surface (anti-HBs IgG) and core (anti-HBc IgG) antigens) and molecular (DNA) markers of HBV infection.

Results and discussion. The overall detection rate of hepatitis B markers was 83.2%; HBsAg was detected in 16.4% of all individuals. The high incidence of HBsAg in men (19.55%) compared to women (8.45%) was shown, the relative risk of HBV infection with the formation of HBsAg-positive chronic hepatitis B in males was also significantly higher. The prevalence of the HBV DNA in the study group was 30.4%, the OBI cases accounted for 15.6%. The prevalence of this form of the disease was shown in donors aged 30–49 years (24.78%), in the group of people younger than 30 years, the incidence was lower (8.73%), and at the age of over 50 years, OBI was not detected. Based on the phylogenetic analysis of 76 virus isolates, it was shown that genotype E prevails in the examined group (85.53%).

Cases of pathogen DNA detection occurred in HBsAg-negative blood donors in the presence of anti-HBs IgG ($n = 4$), as well as in the simultaneous presence of ABs anti-HBs IgG and anti-HBc IgG ($n = 7$). The viral load exceeded 200 IU/ml in OBI samples. Escape mutations were detected by sequencing in each OBI sample, contributing to the virus escaping from diagnostic based on screening for HBsAg.

Conclusion. Assessment of the prevalence viral hepatitis B markers in blood donors, determination of genotypes and clinically significant mutations of virus variants are necessary to ensure safe medical manipulations, control and prevention of the spread of this infectious agent.

Keywords: *viral hepatitis B (HB); occult hepatitis B infection (OBI); hepatitis B virus (HBV); serological markers; molecular biological markers; laboratory diagnostics; infectious blood safety; blood donors; Republic of Guinea*

Forcition: Boumbaly S., Balde T.A.L., Semenov A.V., Ostankova Yu.V., Serikova E.N., Naidenova E.V., Valutite D.E., Shchemelev A.N., Zueva E.B., Esaulenko E.V., Totolian Areg A. Prevalence of viral hepatitis B markers among blood donors in the Republic of Guinea. *Problems of Virology (Voprosy Virusologii)*. 2022; 67(1): 60-68.

DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-92>

For correspondence: Yulia V. Ostankova, Ph.D. (Biol.), Head of the HIV Infection Immunology and Virology Laboratory, Senior Researcher of the Molecular Immunology Laboratory, FBSI «Saint Petersburg Pasteur Research Institute of Epidemiology and Microbiology» of the Federal Service for Surveillance of Consumer Rights Protection and Human Wellbeing (Rosпотребнадзор), 197101, Saint Petersburg, Russia.

E-mail: shenna1@yandex.ru

Information about the authors:

Boumbaly S., <https://orcid.org/0000-0002-4506-6033>

Balde T.A.L., <https://orcid.org/0000-0002-3808-4380>

Semenov A.V., <https://orcid.org/0000-0003-3223-8219>

Ostankova Yu.V., <http://orcid.org/0000-0003-2270-8897>

Serikova E.N., <https://orcid.org/0000-0002-0547-3945>

Naidenova E.V., <https://orcid.org/0000-0001-6474-3696>

Valutite D.E., <https://orcid.org/0000-0002-0931-102X>

Shchemelev A.N., <https://orcid.org/0000-0002-3139-3674>

Zueva E.B., <https://orcid.org/0000-0002-0579-110X>

Esaulenko E.V., <https://orcid.org/0000-0003-3669-1993>

Totolian Areg A., <https://orcid.org/0000-0003-4571-8799>

Contribution: Boumbaly S. – planning and organization of research, sample delivery; Balde T.A.L. – planning and organization of research, sample delivery; Semenov A.V. – organization of research, article text writing; Ostankova Yu.V. – conducting research, literature selection, statistical data processing, illustrative material preparing, article text writing; Serikova E.N. – conducting research; Naidenova E.V. – conducting research, article text writing; Valutite D.E. – conducting research; Shchemelev A.N. – conducting research; Zueva E.B. – conducting research; Esaulenko E.V. – managing of research, article text writing; Totolian Areg A. – general guidance, article text writing.

Funding. The studies were conducted within the framework of the Orders of the Government of the Russian Federation Nos. 1448-r of July 25, 2015, 2904-r of December 22, 2017, and 2985-r of November 14, 2020 on Russian-Guinean scientific and technical cooperation in the field of epidemiology, prevention and monitoring of bacterial and viral infections in the Republic of Guinea.

Acknowledgement. The authors' team is grateful for the help in collecting samples of biological material to the management and employees of the regional hospitals of Conakry (Republic of Guinea).

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

Ethics approval. The study was conducted with the informed consent of the patients. The research protocol was approved by the National Ethics Committee Ministry of Health of the Republic of Guinea (Approval No. 129/CNERS/16 dated August 31, 2015).

Received 23 December 2021

Accepted 27 January 2022

Published 28 February 2022

Введение

Проблема трансфузионной безопасности в отношении парентеральных вирусных гепатитов до настоящего времени сохраняет свою актуальность. Вирусный гепатит В (ГВ) остается наиболее распространенной вирусной инфекцией, передаваемой при трансфузиологических манипуляциях [1]. Несмотря на значимость объема переливаемой плазмы или компонентов крови, определяющую роль в плане инфицирования играет суммарная концентрация вирусных частиц, полученных реципиентом от донора, так как минимальная инфекционная доза для заражения вирусом ГВ (ВГВ – *Hepadnaviridae: Orthohepadnavirus: Hepatitis B virus*) составляет ~16 копий (3 МЕ/мл) ДНК этого патогена [2]. Таким образом, переливание компонентов крови остается одним из ведущих вариантов искусственного пути передачи ВГВ. На протяжении последних десятилетий риск такой передачи возбудителя ГВ неуклонно снижался за счет сложившейся в большинстве стран мира регламентированной практики обеспечения безопасности гемоконтактной терапии. Так, к уменьшению вероятности инфицирования ведет определенный порядок формирования донорских кадров, включающий набор добровольцев, медицинское освидетельствование, лабораторное тестирование по декретированным показателям и отбор кандидатов на основе оценки поведенческого риска. Один из способов снизить вероятность передачи ВГВ при переливании донорской крови – полноценный скрининг образцов. Определение присутствия данного инфекционного агента в сыворотке возможно по биохимическим, гистологическим и вирусологическим характеристикам, таким, например, как уровень активности аланинаминотрансферазы (АЛТ), наличие связанных с ГВ антител (АТ) и/или антигенов и ДНК вируса. Однако в большинстве лабораторий установление факта инфицированности доноров производится только по одному серологическому маркеру – поверхностному антигену ВГВ (НВsAg), что на сегодняшний день, безусловно, недостаточно. Во-первых, инфекция не будет выявлена в период «серонегативного окна», который составляет ~59 дней (в среднем 45–50 для наиболее чувствительных тест-систем). Во-вторых, одной из естественных фаз течения хронического вирусного гепатита В (ХГВ) является occultный гепатит (ОкГВ), характеризующийся недетектируемым уровнем НВsAg (независимо от содержания иных серологических маркеров) при наличии ДНК ВГВ в ткани печени и крайне низким уровнем вирусной нагрузки в крови вплоть до неопределяемого [3]. Истинный ОкГВ можно разделить на серонегативный и серопозитивный. При этом развитие данной формы инфекции в первом случае может быть как мгновенным (при первичном инфицировании), так и постепенным с потерей серологических маркеров по мере клинического течения заболевания. При серопозитивном же варианте ОкГВ потеря НВsAg может являться либо итогом разрешения острого ГВ, либо

последовательной фазой прогрессирования ХГВ [4]. Третьей причиной отрицательного результата выявления НВsAg могут быть мутации, связанные с конформационными и гидрофобными изменениями внутри и за пределами главного гидрофильного региона (области) (major hydrophilic region, MHR) НВsAg – основной мишени для захвата АТ в коммерческих наборах (так называемый ложный ОкГВ) [1].

Учитывая сказанное, в некоторых странах процедура скрининга доноров при выявлении серологических маркеров ГВ расширена введением протокола определения АТ анти-НВс IgG [5]. В отличие от НВsAg последние могут присутствовать как при ХГВ, так и в период реконвалесценции острой инфекции, когда НВsAg детектируется не во всех случаях. Однако тест-системы для определения серологических маркеров ГВ изначально разрабатывались для обследования пациентов с подозрением на заболевание, а не для скринирования доноров, и могут давать ложноположительный результат, так как их чувствительность часто выше специфичности, а показатели ложной реактивности могут составлять от 16 до 75% [1, 5]. Кроме того, тесты на анти-НВс IgG не выявляют инфекцию в период «серонегативного окна», а стратегия скрининга доноров на анти-НВс IgG не может быть использована в регионах с высокой встречаемостью ВГВ, поскольку становится возможной неприемлемо большая потеря потенциальных доноров крови. Тем не менее тестирование на анти-НВс IgG по-прежнему может играть значительную роль в алгоритмах скрининга ввиду снижения остаточного риска инфицирования.

В ряде стран для выявления инфицированных доноров крови введено обязательное тестирование на присутствие ДНК ВГВ [5]. Поскольку, как уже сказано выше, для ОкГВ характерна очень низкая (чаще неопределяемая) вирусная нагрузка, такая процедура затруднена, в связи с чем сформулированы рекомендации по использованию для обнаружения вируса как коммерческих наборов, так и комплектов олигонуклеотидов совместно с вложенной, или гнездовой (*англ. nested*) полимеразной цепной реакцией (ПЦР), разработанных в лабораториях, изучающих данный патоген [3, 6].

В большинстве случаев ОкГВ протекает бессимптомно, не проявляясь клинически и морфологически на протяжении нескольких лет [7]. Распространенность ОкГВ в мире варьирует от региона к региону и в целом тем больше, чем выше доля НВsAg-позитивных больных ХГВ. В странах Африки ВГВ широко распространен; соответственно, встречаемость occultной формы ХГВ потенциально также высока. В частности, распространенность ОкГВ среди городского населения африканских государств по некоторым данным достигает 30% [8]. В Гвинейской Республике, как и в большинстве государств континента, профилактика трансфузионной передачи ВГВ посредством скрининга доноров до сих пор основывается на изолированном серологическом определении НВsAg [9, 10]. В связи с этим ОкГВ сохраняется

в качестве потенциальной угрозы для гемотрансфузионной безопасности.

Выявление ДНК ВГВ у доноров крови является сложной задачей для стран с низким уровнем дохода, таких как Гвинейская Республика, из-за высокой стоимости диагностики, ограниченности имеющихся материально-технических ресурсов и недостаточного количества обученного персонала. Несмотря на то что в период борьбы с эпидемией болезни, вызванной вирусом Эбола (БВВЭ) (*Filoviridae: Ebolavirus: Zaire ebolavirus*) в 2014–2016 гг., в рамках международного сотрудничества в стране разворачивались сети госпиталей, оборудовались диагностические лаборатории и проводилось обучение персонала, молекулярно-генетические методы по-прежнему не используются при скринировании донорской крови на парентеральные гепатиты и вирус иммунодефицита человека (ВИЧ) (*Retroviridae: Orthoretrovirinae: Lentivirus: Human immunodeficiency virus*). Это частично связано с тем, что все вышеупомянутые ресурсы в большинстве своем направлены на выявление возбудителей особо опасных инфекций [11]. Тем не менее определение ДНК ВГВ служит надежной профилактической мерой против передачи вируса от доноров с HBsAg-негативным ГВ, особенно в высокоэндемичных по нему регионах. В связи с этим для обоснования рекомендаций по повышению безопасности крови на фоне значительной частоты встречаемости ВГВ на территории Гвинейской Республики проведено настоящее исследование.

Целью работы являлась оценка распространенности серологических и молекулярно-генетических маркеров возбудителя ГВ среди доноров крови в Гвинейской Республике.

Материал и методы

В работе использовали образцы плазмы крови, полученные в 2019 г. от 250 добровольных доноров, проживающих на территории г. Конакри (Гвинейская Республика). Лабораторные исследования проводили на базе Российско-гвинейского научного исследовательского центра эпидемиологии и профилактики инфекционных болезней, расположенного на территории Исследовательского института прикладной биологии Гвинеи (IRBAG) в префектуре Киндиа. На проведение данного этапа работы было получено согласие Национального этического комитета Министерства здравоохранения Гвинейской Республики (Протокол № 129/CNERS/16 от 31 августа 2015 г.). Все участвующие в эксперименте лица предоставили письменное информированное согласие на проведение исследований.

Обследование пациентов на наличие серологических маркеров парентеральных вирусных гепатитов методом иммуноферментного анализа (ИФА) производили путем качественного определения HBsAg, АТ анти-HBs IgG и анти-HBc IgG с использованием коммерческих наборов «ДС-ИФА-HBsAg», «ДС-ИФА-АНТИ-HBsAg», «ДС-ИФА-АНТИ-HBc» (НПО «Диагностические системы», Россия) и «Вектогеп В-HBs-антиген», «ВектоHBsAg-антигена», «Гепабест

анти-HBc-IgG», (АО «Вектор-Бест», Россия) согласно инструкциям производителя.

Выявление генетических маркеров возбудителя ГВ осуществляли методом ПЦР в режиме реального времени (ПЦР-РВ) с гибридизационно-флуоресцентной детекцией как при помощи коммерческого набора «АмплиСенс HBV-FL» (ФБУН ЦНИИ эпидемиологии, Россия) в соответствии с инструкциями производителя, так и с использованием разработанной в ФБУН «Санкт-Петербургский НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера» методики, позволяющей детектировать ДНК ВГВ в биологическом материале при низкой вирусной нагрузке, в т.ч. при HBsAg-негативном ГВ или ОкГВ [6].

Для определения генотипов вируса выполняли nested-ПЦР с последующим секвенированием. Использовали перекрывающиеся пары праймеров, совместно фланкирующие фрагмент протяженностью 1475 п.н., который включает регион HBs Pre-S1/Pre-S2/S размером 1169 п.н. (область 2848–3182...1–835 п.н.) согласно представленному в международной базе данных GenBank изоляту Mart-B47 (HE974377.1) [12].

Статистическую обработку данных производили с помощью пакетов программ MS Excel professional plus 2013 (Microsoft), Prizm v5.0 (GraphPad Software Inc.). При оценке статистической погрешности использовали «точный» интервал Клоппера–Пирсона. Результаты представляли 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 Йейтса. В качестве порога достоверности отличий значение вероятности определили как $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Возраст обследованных варьировал от 18 до 72 лет. Доля мужчин в группе превышала число женщин в 2,5 раза: 71,6 и 28,4% (95% ДИ: 65,58–77,1) соответственно. На первом этапе исследования проведен гендерно-возрастной анализ доноров крови, у которых получали образцы для выявления маркеров ГВ (**рисунок**).

При оценке общей распространенности серологических маркеров в исследуемых образцах их встречаемость составила 83,2% (95% ДИ: 77,98–87,62), однако HBsAg обнаружен у лишь 16,4% (95% ДИ: 12,03–21,58) лиц. Результат анализа встречаемости исследованных маркеров ГВ в группе представлен в **табл. 1**.

Высокая встречаемость серологических маркеров ГВ в группе обследованных, свидетельствующая о контакте с вирусом большинства из них, подтверждает данные о распространенности патогена на территории Африканского региона. Так, например, в Республике Гвинея-Бисау контакт с ВГВ доказан у 91,9% доноров крови [13]. Частота положительной детекции HBsAg у первичных доноров в Гвинейской Республике в исследовании 1999–2000 гг.

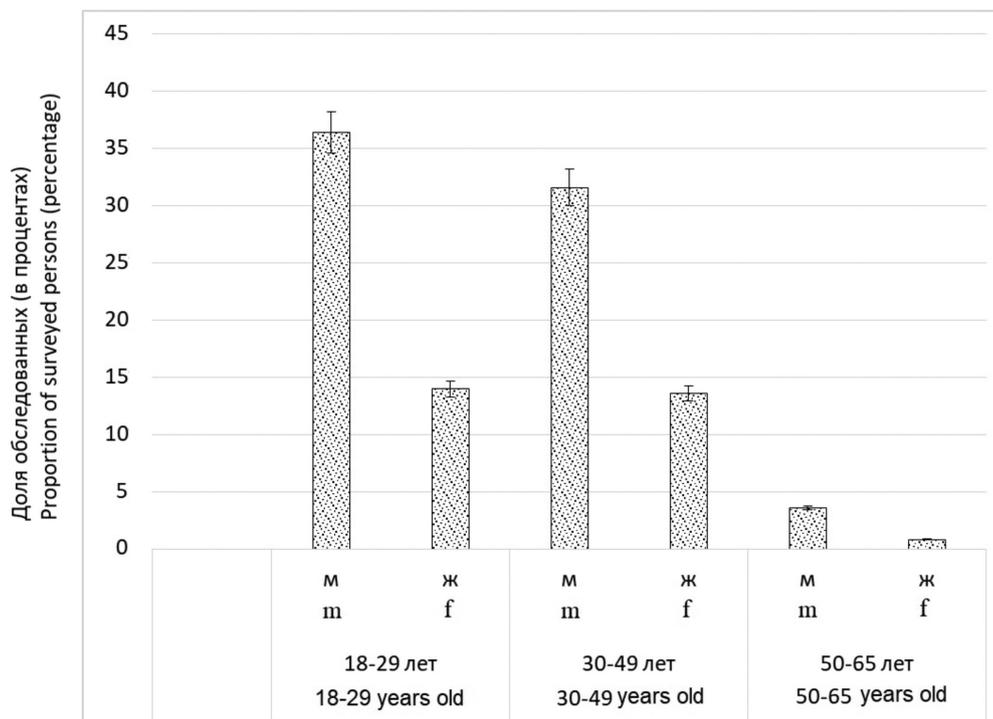


Рис. Гендерно-возрастная структура обследованных доноров крови.

Примечание. Даны следующие обозначения: м (m) – мужчины, ж (f) – женщины.

Fig. Gender-age structure of the examined blood donors.

Note. The following designations are given: m, male, f, female.

Таблица 1. Распределение серологических маркеров гепатита В (HBsAg, анти-HBc IgG, анти-HBs IgG) в обследованной группе и среди серопозитивных лиц

Table 1. Distribution of the hepatitis B serological markers (HBsAg, anti-HBc IgG, anti-HBs IgG) in the examined group and among seropositive individuals

Выявленные серологические маркеры в сыворотке крови Revealed serological markers in blood serum	Число обследованных лиц (доля в процентах) n = 250 Number of surveyed individuals (proportion in percentage) n = 250	Доля серопозитивных доноров от числа лиц с серологическими маркерами гепатита В (в процентах) n = 208 Proportion of seropositive donors out of the number of individuals with hepatitis B serological markers (in percentage) n = 208
HBsAg	41 (16.40)	19,71
HBs IgG	34 (13.60)	16,35
HBc IgG	73 (29.20)	35,10
HBc IgG + HBs IgG	60 (24.00)	28,85
Серонегативные лица Seronegative individuals	42 (16.80)	–

составляла 15% [9]. Результаты настоящего исследования подтверждают, что ГВ по-прежнему является серьезной проблемой для здравоохранения региона, и в целом соответствуют данным о распространенности маркера среди доноров крови в Западной Африке [13, 14], составляя 16,4%. Столь высокая встречаемость этого антигена в обследованной группе связана, по всей видимости, с тем, что существенная доля исследованных лиц являлись первичными донорами (64,8%; 95% ДИ: 58,53–70,71), которые в странах Африки нередко сдают кровь в целях получения вознаграждения, будучи также заинтересованы в бесплатном тестировании на ВИЧ, сифилис и парентеральные вирусные гепатиты. Отмечено, что количе-

ство HBsAg-положительных донаций по отношению к HBsAg-негативным значительно выше у первичных и/или замещающих доноров, чем среди безвозмездных доноров-добровольцев, для которых показана значительно более низкая распространенность вирусных маркеров [14]. В связи с этим возможно дополнительное повышение степени трансфузиологической безопасности за счет привлечения добровольных безвозмездных доноров к сдаче крови на регулярной основе – регулярному донорству.

При анализе встречаемости HBsAg в группе по гендерному показателю продемонстрирована значительно большая встречаемость данного маркера у мужчин (19,55%), чем среди женщин (8,45%); при этом относи-

тельный риск (relative risk, RR) инфицирования вирусом с формированием HBsAg-позитивной формы ХГВ у лиц мужского пола достоверно выше по сравнению с женщинами (RR = 2,314; 95% ДИ: 1,018–5,251; $p = 0,0369$).

В группе доноров выявлено 53,2% (95% ДИ: 46,81–59,51) случаев наличия анти-HBc IgG, из них 45,11% (24% от общего числа) – с одновременным присутствием анти-HBs IgG. Данный факт указывает на то, что 24% доноров контактировали с вирусом, выздоровели и сохраняли определяемые уровни нейтрализующих АТ после естественного заражения. В Республике Гана, стране с высокой эндемичностью по ГВ, АТ анти-HBs IgG обнаружены у 24,5% анти-HBc-реактивных доноров [15]. Большое значение имеет выявление части доноров с анти-HBs IgG, сообщающих об отсутствии вакцинации против ГВ в анамнезе.

Отдельного внимания заслуживают ситуации, характеризующиеся изолированным наличием анти-HBc IgG, поскольку существует несколько возможных объяснений подобного серологического профиля: 1) поздняя реконвалесценция острого гепатита В, при которой HBsAg не выявляется, но низкий уровень ДНК ВГВ еще может сохраняться в течение короткого времени; 2) ХГВ в присутствии анти-HBc IgG при концентрации HBsAg ниже предела чувствительности используемых диагностических наборов; 3) инфицирование вирусом, несущим мутации, приводящие к низкому уровню репликации и/или образованию измененных эпитопов HBsAg, которые не обнаруживаются с помощью используемых в практическом здравоохранении тест-систем. Таким образом, среди доноров крови с единственным серологическим маркером в виде анти-HBc IgG возможны случаи как истинного, так и ложного ОкГВ.

В литературных источниках, описывающих распространенность ОкГВ в различных популяциях, обычно представлены данные относительно определенных этнических групп или групп риска повышенного инфицирования, по каким-либо причинам заинтересовавших исследователей. Кроме того, вариабельность этого показателя зависит от применяемых для скрининга методов диагностики и их чувствительности, а также от анализируемых характеристик того или иного контингента. Например, в группах риска (ВИЧ- или ВГС-инфицированные (вирус гепатита С, *Flaviviridae: Hepacivirus: Hepacivirus C*), потребители инъекционных наркотиков и т.д.) встречаемость ОкГВ значительно выше. Несмотря на противоречивые сведения относительно его распространенности в популяциях здоровых лиц, при изучении специфического иммунитета показано, что выраженность реакции Т-хелперов 1 (Th1), способствующих развитию клеточного иммунного ответа преимущественно за счет макрофагальной активации, у пациентов с ОкГВ оказалась значительно выше, чем среди имеющих HBsAg-позитивный ХГВ [16, 17]. В процессе реактивации ОкГВ возможно увеличение репликативной активности вируса у пациентов, принимающих иммуносупрессивные препараты, а также

у ВИЧ-позитивных на фоне длительной антиретровирусной терапии; при этом результатом может быть развитие фульминантного гепатита с летальным исходом. Считается, что вероятность реактивации составляет от 21 до 67% [18]. При этом не исключена роль ОкГВ в фиброзировании ткани печени, прогрессировании до цирроза и гепатоцеллюлярной карциномы при низкой вирусной нагрузке [3, 7].

В Гвинейской Республике данные относительно ОкГВ получены для ВИЧ-инфицированных пациентов и свидетельствуют об уровне распространенности до 45,16% в указанной группе [19]. Этот показатель определен также для беременных, распространенность HBsAg-негативного ГВ среди которых равна 9,84% [20].

В настоящем исследовании присутствие ДНК ВГВ зарегистрировано у 90,24% (14,8% от общего количества исследуемых) HBsAg-позитивных и у 18,66% (15,6%) HBsAg-негативных лиц, соответственно. Встречаемость ДНК ВГВ среди доноров крови составила 30,4% (95% ДИ: 24,76–36,51), причем 15,6% (95% ДИ: 11,33–20,7) приходится на случаи ОкГВ. Установленная распространенность последнего среди доноров крови в Гвинейской Республике в целом соответствует показателям стран Западной Африки, где показана частота ОкГВ на уровне 4,6–17,0%, а в отдельных когортах HBsAg-отрицательных доноров – до 32% [21]. Неоднородность данных разных исследований может быть объяснена различиями в используемых методах и стратегиях формирования анализируемых выборок [22]. В настоящей работе тестирование на вирусную ДНК выполняли индивидуально в каждом образце; диагностика же с использованием минипулов, включающих даже 2–3 образца, может повлиять на эффективность подобного тестирования за счет получаемого разбавления при объектировании проб. Низкий уровень вирусной нагрузки (<20 МЕ/мл), наблюдаемый в большинстве выявленных нами случаев, подтверждает, что доноры с истинным ОкГВ инфицированы репликационно-компетентными патогенами, репликационная активность и экспрессия генов которых подавлены.

Следует отметить, что частота выявления маркеров патогенов у доноров крови в сельской местности может быть выше по сравнению с уровнем распространенности ВГВ, выявленным нами в г. Конакри. Это может быть обусловлено, во-первых, ограниченным доступом к медицинской помощи, включая диагностику, в сельских общинах по сравнению с городскими; во-вторых, значительно более низким уровнем грамотности в сельской, нежели в городских, что может затруднить восприятие и понимание сообщений в отношении путей передачи возбудителя [8].

Возрастное распределение доноров крови с ОкГВ оказалось сходным с наблюдаемым в аналогичных популяциях в 1995–2005 гг. в странах Южно-Африканского региона. Данная форма выявлена преимущественно среди лиц 30–49 лет (24,78%; 95% ДИ: 17,14–33,78), тогда как в возрасте младше 30 лет встречаемость ее была значительно ниже (8,73%; 95% ДИ: 4,44–15,08;

$\chi^2 = 11,236$ при $p = 0,0008$, df (число степеней свободы, degrees of freedom) = 1), а в возрасте старше 50 лет ОжГВ не обнаружен ни у одного из исследуемых. Возникновение ОжГВ в более молодом возрасте, по-видимому, связано не с каким-либо характерным для региона генотипом ВГВ, а, скорее, со спецификой естественного течения и передачи инфекции на территории Африки к югу от Сахары. Подобная специфика предусматривает реализацию главным образом вертикального пути инфицирования в раннем детстве.

Результаты распределения ДНК ВГВ и серологических маркеров вируса среди HBsAg-негативных доноров крови представлены в **табл. 2**.

На основании полученных результатов следует констатировать, что изолированного скрининга донорской крови на HBsAg недостаточно для устранения риска трансфузионной передачи ВГВ в Гвинейской Республике. Тестирование донаций с целью определения ДНК вируса снижает этот риск за счет выявления ОжГВ и острых инфекций в период «серологического окна» [22]. В отсутствие тестирования на анти-HBs IgG и ДНК ВГВ проведение гемотрансфузионных мероприятий сопряжено с риском передачи инфекции от доноров, имеющих occultную форму болезни [9].

Поскольку в трансфузиологической практике существует тенденция последовательного применения тех или иных мер безопасности на фоне уже принятых для достижения конечной цели нулевого риска, соответствующие затраты и экономическая эффективность все в большей степени становятся предметом дискуссий. Однако на сегодняшний день дополнительное тестирование донаций в высокоэндемичных по ГВ регионах только на анти-HBs IgG без одновременного определения вирусной ДНК вызовет значительный дефицит снабжения компонентами и препаратами крови. Возможным решением может стать одновременный скрининг на анти-HBs IgG, поскольку их присутствие в концентрации >100 МЕ/л в анти-HBs IgG-положительных донорских средах обыч-

но считается безопасным с трансфизиологической точки зрения.

Кроме того, для всех образцов нами определены также генотипы и субгенотипы вируса. На основании филогенетического анализа 76 изолятов ВГВ показано, что в обследованной группе преобладают варианты возбудителя генотипа E (85,53%) по сравнению с генотипом A субгенотипа A3 (11,84%) и генотипа D субгенотипа D2 (2,63%). Распределение генотипов вируса у доноров крови в Гвинейской Республике в 2006 г. также продемонстрировало преобладание генотипа E (95,1%) по сравнению с A3 (1%) и рекомбинантной формой A/E (4–7%) [23].

Следует отметить, что в Гвинейской Республике распределение геновариантов ВГВ среди доноров крови отличается от такового среди ВИЧ-инфицированных лиц, у которых преобладал ВГВ генотипа E (47,36%), по сравнению с D1 – 21,05%, D2 – 15,78%, D3 – 10,52% и A2 – 5,26%, однако при этом отсутствовал субгенотип A3 ($\chi^2 = 29,739$ при $p < 0,0001$, $df = 2$) [19].

Особый интерес представляют случаи выявления вирусной ДНК у HBsAg-негативных доноров крови при наличии АТ анти-HBs IgG ($n = 4$) и одновременном присутствии антител анти-HBs IgG и анти-HBs IgG ($n = 7$), что свойственно реконвалесцентам и свидетельствует о сформировавшемся протективном иммунитете. Во всех этих случаях вирусная нагрузка превышала 200 МЕ/мл, то есть у всех 11 пациентов установлен ложный ОжГВ. Это может быть результатом точечных мутаций в располагающейся в зоне MHR S-белка ВГВ а-детерминанте. Данные мутационные изменения способны приводить к изменению иммунологического эпитопа, влиять на антигенность, иммуногенность, секрецию и/или экспрессию HBsAg, снижать или полностью подавлять репликацию и/или секрецию вириона, оказывая неблагоприятное воздействие на HBsAg, что приводит к неэффективности обнаружения указанного маркера. Для этих изолятов

Таблица 2. Распределение ДНК ВГВ и серологических маркеров вирусного гепатита В (анти-HBs IgG, анти-HBs IgG) среди HBsAg-негативных доноров крови и в общей группе

Table 2. Hepatitis B virus DNA and serological markers (anti-HBs IgG, anti-HBs IgG) distribution in the HBsAg-negative and in the general groups

Выявленные серологические маркеры и ДНК ВГВ в плазме крови Revealed HBV DNA and serological markers in blood serum	Число обследованных HBsAg-негативных доноров (доля от лиц с серологическими маркерами гепатита В, в процентах) $n = 209$ Number of HBsAg-negative donors examined (proportion of individuals with hepatitis B serological markers, in percentage) $n = 209$	Доля от общего числа обследованных лиц (в процентах) $n = 250$ Proportion of the total number of surveyed individuals (in percentage) $n = 250$
HBs IgG + ДНК ВГВ HBs IgG + HBV DNA	4 (1,91)	1,60
HBc IgG + ДНК ВГВ HBc IgG + HBV DNA	21 (10,05)	8,40
HBc IgG + HBs IgG + ДНК ВГВ HBc IgG + HBs IgG + HBV DNA	7 (3,35)	2,80
Серонегативные лица с наличием ДНК ВГВ Seronegative individuals with HBV DNA presence	7 (3,35)	2,80

мы провели секвенирование полных геномов вируса в соответствии с описанной ранее процедурой [24]. Полученные нуклеотидные последовательности депонированы в международную базу GenBank под номерами MZ962189–MZ962199. Все образцы принадлежат к генотипу E; в каждом случае обнаружены мутации, ассоциированные с HBsAg-негативным ХГВ (Y100C, M103I) и/или escape-мутации, локализованные в области MHR гена S, способствующие ускользанию вируса от диагностики при скринировании на HBsAg (L115I/E, T127P, Q129H/R, M133I/A/F, C137Y, K141E, D144E, G145A/R, C147T, R149A/D). Перечисленными мутациями можно объяснить природу случаев ОкГВ, наблюдавшихся в нашем исследовании. Такие же мутационные изменения наблюдались при выявленном ложном ОкГВ у HBsAg-негативных доноров крови в Буркина-Фасо [21]. Присутствие генотипов ВГВ с escape-мутациями имеет большое клиническое значение, поскольку последние могут способствовать реактивации ГВ даже у пациентов с анти-HBs IgG.

В дальнейшем предполагается проведение анализа с молекулярно-генетической характеристикой всех выявленных вариантов ВГВ в группе доноров крови.

Заключение

Таким образом, среди доноров крови в г. Конакри установлена высокая встречаемость вирусного ГВ, включая его оккультную форму. Изучение структуры генома возбудителя заболевания, проведенное при скрининге донорской крови, доказывает значимость определения не только HBsAg, но и анти-HBc IgG наряду с ДНК ВГВ, что снизит риск передачи вируса реципиентам от доноров с ОкГВ. В высокоэндемичных по ГВ странам следует проводить собственную оценку эффективности и экономической целесообразности внедрения высокотехнологичных методов скринирования доноров крови на основе информации о ресурсах государственного здравоохранения и эпидемиологических данных. В связи с изложенным определена необходимость проведения дальнейших исследований для более точной оценки распространенности ВГВ среди первичных и регулярных доноров крови, определения генотипов и клинически значимых мутаций циркулирующих в регионе вирусных вариантов.

ЛИТЕРАТУРА

- Niederhauser C. Reducing the risk of hepatitis B virus transfusion-transmitted infection. *J. Blood Med.* 2011; 2: 91–102. <https://doi.org/10.2147/JBM.S12899>
- Candotti D., Assenato 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>
- Raimondo G., Locarnini S., Pollicino T., Levrero M., Zoulim F., Lok A.S., the Taormina Workshop on Occult HBV Infection Faculty Members. 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>
- Mulrooney-Cousins P.M., Michalak T.I. Persistent occult hepatitis B virus infection: experimental findings and clinical implications. *World J. Gastroenterol.* 2007; 13(43): 5682–6. <https://doi.org/10.3748/wjg.v13.i43.5682>
- 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>
- Серикова Е.Н., Семенов А.В., Останкова Ю.В., Тотолян Арег А. Метод выявления вируса гепатита В в плазме крови при низкой вирусной нагрузке с использованием ПЦР в режиме реального времени. *Клини. Лаб. Диагн.* 2021; 66(1): 59–64. <https://doi.org/10.18821/0869-2084-2021-66-1-59-64>
- Эсауленко Е.В., Никитина О.Е., Порецкова Е.А., Писарева М.М. Вирусная нагрузка при хроническом гепатите В: корреляции с лабораторно-морфологическими показателями. *Журнал инфектологии.* 2012; 4(2): 67–72.
- Arica B.S., Seremba E., Rule J., Yuan H.J., Lee W.M. High prevalence of occult hepatitis B infection in an African urban population. *J. Med. Virol.* 2016; 88(4): 674–80. <https://doi.org/10.1002/jmv.24372>
- Loua A., Sow E.M., Magassouba F.B., Camara M., Baldé M.A. Evaluation of residual infectious risk among blood donors in National Center of Blood Transfusion in Conakry. *Transfus. Clin. Biol.* 2004; 11(2): 98–100. <https://doi.org/10.1016/j.tracli.2004.01.004> (in French)
- Delamou A., Haba N.Y., Mari-Saez A., Gallian P., Ronse M., Jacobs J., et al. Organizing the donation of convalescent plasma for a therapeutic clinical trial on Ebola virus disease: the experience in Guinea. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2016; 95(3): 647–53. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.15-0890>
- Найденова Е.В., Лопатин А.А., Сафронов В.А., Коломоец Е.В., Левковский А.Е., Силла А.Л., и др. Обеспечение биологической безопасности при проведении противоэпидемических мероприятий в период ликвидации эпидемии лихорадки Эбола в Гвинейской Республике. *Инфекционные болезни: новости, мнения, обучение.* 2018; 7(3): 102–8. <https://doi.org/10.24411/2305-3496-2018-13015>
- Brichler S., Lagathu G., Chekarou M.A., Le Gal F., Edouard A., Dény P., et al. African, Amerindian and European hepatitis B virus strains circulate on the Caribbean Island of Martinique. *J. Gen. Virol.* 2013; 94(Pt. 10): 2318–29. <https://doi.org/10.1099/vir.0.055459-0>
- Hønge B.L., Olesen J.S., Jensen M.M., Jespersen S., da Silva Z.J., Rodrigues A., et al. Hepatitis B and C in the adult population of Bissau, Guinea-Bissau: a cross-sectional survey. *Trop. Med. Int. Health.* 2020; 25(2): 255–63. <https://doi.org/10.1111/tmi.13335>
- Osaro E., Charles A.T. The challenges of meeting the blood transfusion requirements in Sub-Saharan Africa: the need for the development of alternatives to allogenic blood. *J. Blood Med.* 2011; 2: 7–21. <https://doi.org/10.2147/JBM.S17194>
- Allain J.P., Candotti D., Soldan K., Sarkodie F., Phelps B., Giachetti C., et al. The risk of hepatitis B virus infection by transfusion in Kumasi, Ghana. *Blood.* 2003; 101(6): 2419–25. <https://doi.org/10.1182/blood-2002-04-1084>
- Bes M., Vargas V., Piron M., Casamitjana N., Esteban J.I., Vilanova N., et al. T cell responses and viral variability in blood donation candidates with occult hepatitis B infection. *J. Hepatol.* 2012; 56(4): 765–74. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2011.11.011>
- Zerbini A., Pilli M., Boni C., Fiscicaro P., Penna A., Di Vincenzo P., et al. The characteristics of the cell-mediated immune response identify different profiles of occult hepatitis B virus infection. *Gastroenterology.* 2008; 134(5): 1470–81. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2008.02.017>
- Makvandi M. Update on occult hepatitis B virus infection. *World J. Gastroenterol.* 2016; 22(39): 8720–34. <https://doi.org/10.3748/wjg.v22.i39.8720>
- Щемелев А.Н., Останкова Ю.В., Зуева Е.Б., Voumbaly S., Balde T.A.L., Семенов А.В. Характеристика вируса гепатита В и вируса иммунодефицита человека среди пациентов с коинфекцией ВИЧ/ВГВ из Гвинейской Республики. *Проблемы особо опасных инфекций.* 2019; (3): 118–24. <https://doi.org/10.21055/0370-1069-2019-3-118-124>
- Балде Т.А.Л., Бумбали С., Серикова Е.Н., Валутите Д.Э., Щемелев А.Н., Останкова Ю.В., и др. Сравнительный анализ вертикального риска передачи некоторых гемоконтактных инфекций в Гвинейской Республике. *Проблемы особо опасных инфекций.* 2021; (1): 87–94. <https://doi.org/10.21055/0370-1069-2021-1-87-94>
- Diarra B., Yonli A.T., Sorgho P.A., Compaore T.R., Ouattara A.K., Zongo W.A., et al. Occult hepatitis B virus infection and associated

- genotypes among HBsAg-negative subjects in Burkina Faso. *Mediterr. J. Hematol. Infect. Dis.* 2018; 10(1): e2018007. <https://doi.org/10.4084/MJHID.2018.007>
22. Allain J.P., Candotti D. Diagnostic algorithm for HBV safe transfusion. *Blood Transfus.* 2009; 7(3): 174–82. <https://doi.org/10.2450/2008.0062-08>
 23. Garmiri P., Loua A., Haba N., Candotti D., Allain J.P. Deletions and recombinations in the core region of hepatitis B virus genotype E strains from asymptomatic blood donors in Guinea, west Africa. *J. Gen. Virol.* 2009; 90(Pt. 10): 2442–51. <https://doi.org/10.1099/vir.0.012013-0>
 24. Ostankova Yu.V., Semenov A.V., Zueva E.B., Totolian Areg A. The first cases of Hepatitis B virus subgenotype D4 detection in patients with chronic, acute, and occult hepatitis B in the Russian Federation. *Mol. Gen. Microbiol. Virol.* 2020; 35: 221–8. <https://doi.org/10.3103/S0891416820040072>
- ### REFERENCES
1. Niederhauser C. Reducing the risk of hepatitis B virus transfusion-transmitted infection. *J. Blood Med.* 2011; 2: 91–102. <https://doi.org/10.2147/JBM.S12899>
 2. 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>
 3. Raimondo G., Locarnini S., Pollicino T., Levrero M., Zoulim F., Lok A.S., the Taormina Workshop on Occult HBV Infection Faculty Members. 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>
 4. Mulrooney-Cousins P.M., Michalak T.I. Persistent occult hepatitis B virus infection: experimental findings and clinical implications. *World J. Gastroenterol.* 2007; 13(43): 5682–6. <https://doi.org/10.3748/wjg.v13.i43.5682>
 5. 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>
 6. Serikova E.N., Semenov A.V., Ostankova Yu.V., Totolian Areg A. Method for detecting hepatitis B virus in blood plasma at low viral load using real-time PCR [Metod vyyavleniya virusa gepatita V v plazme krovi pri nizkoy virusnoy nagruzke s ispol'zovaniem PIsR v rezhime real'nogo vremeni]. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika.* 2021; 66(1): 59–64. <https://doi.org/10.18821/0869-2084-2021-66-1-59-64> (in Russian)
 7. Esaulenko E.V., Nikitina O.E., Poretskova E.A., Pisareva M.M. Viral load in chronic hepatitis B: correlation with laboratory and morphological parameters [Virusnaya nagruzka pri khronicheskom gepatite V: korrelyatsii s laboratorno-morfologicheskimi pokazatelyami]. *Zhurnal infektologii.* 2012; 4(2): 67–72. (in Russian)
 8. Apica B.S., Seremba E., Rule J., Yuan H.J., Lee W.M. High prevalence of occult hepatitis B infection in an African urban population. *J. Med. Virol.* 2016; 88(4): 674–80. <https://doi.org/10.1002/jmv.24372>
 9. Loua A., Sow E.M., Magassouba F.B., Camara M., Baldé M.A. Evaluation of residual infectious risk among blood donors in National Center of Blood Transfusion in Conakry. *Transfus. Clin. Biol.* 2004; 11(2): 98–100. <https://doi.org/10.1016/j.tracli.2004.01.004> (in French)
 10. Delamou A., Haba N.Y., Mari-Saez A., Gallian P., Ronse M., Jacobs J., et al. Organizing the donation of convalescent plasma for a therapeutic clinical trial on Ebola virus disease: the experience in Guinea. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2016; 95(3): 647–53. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.15-0890>
 11. Naidenova E.V., Lopatin A.A., Safronov V.A., Kolomoets E.V., Levkovskiy A.E., Silla A.L., et al. Biological safety at carrying out anti-epidemic measures during the liquidation of the epidemic Ebola fever in the Republic of Guinea [Obespechenie biologicheskoy bezopasnosti pri provedenii protivoepidemicheskikh meropriyatii v period likvidatsii epidemii likhoradki Ebola v Gvineyskoy Respublike]. *Infektsionnye bolezni: novosti, mneniya, obuchenie.* 2018; 7(3): 102–8. <https://doi.org/10.24411/2305-3496-2018-13015> (in Russian)
 12. Brichler S., Lagathu G., Chekaraou M.A., Le Gal F., Edouard A., Dény P., et al. African, Amerindian and European hepatitis B virus strains circulate on the Caribbean Island of Martinique. *J. Gen. Virol.* 2013; 94(Pt. 10): 2318–29. <https://doi.org/10.1099/vir.0.055459-0>
 13. Hønge B.L., Olesen J.S., Jensen M.M., Jespersen S., da Silva Z.J., Rodrigues A., et al. Hepatitis B and C in the adult population of Bissau, Guinea-Bissau: a cross-sectional survey. *Trop. Med. Int. Health.* 2020; 25(2): 255–63. <https://doi.org/10.1111/tmi.13335>
 14. Osaro E., Charles A.T. The challenges of meeting the blood transfusion requirements in Sub-Saharan Africa: the need for the development of alternatives to allogenic blood. *J. Blood Med.* 2011; 2: 7–21. <https://doi.org/10.2147/JBM.S17194>
 15. Allain J.P., Candotti D., Soldan K., Sarkodie F., Phelps B., Giachetti C., et al. The risk of hepatitis B virus infection by transfusion in Kumasi, Ghana. *Blood.* 2003; 101(6): 2419–25. <https://doi.org/10.1182/blood-2002-04-1084>
 16. Bes M., Vargas V., Piron M., Casamitjana N., Esteban J.I., Vilanova N., et al. T cell responses and viral variability in blood donation candidates with occult hepatitis B infection. *J. Hepatol.* 2012; 56(4): 765–74. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2011.11.011>
 17. Zerbini A., Pilli M., Boni C., Fisicaro P., Penna A., Di Vincenzo P., et al. The characteristics of the cell-mediated immune response identify different profiles of occult hepatitis B virus infection. *Gastroenterology.* 2008; 134(5): 1470–81. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2008.02.017>
 18. Makvandi M. Update on occult hepatitis B virus infection. *World J. Gastroenterol.* 2016; 22(39): 8720–34. <https://doi.org/10.3748/wjg.v22.i39.8720>
 19. Shchemelev A.N., Ostankova Yu.V., Zueva E.B., Boumbaly S., Balde T.A.L., Semenov A.V. Characterization of hepatitis B virus and human immunodeficiency virus among HIV/HBV co-infected patients from the Republic of Guinea [Kharakteristika virusa gepatita B i virusa immunodefitsita cheloveka sredi patsientov s koinfektsiyey VCh/VGV iz Gvineyskoy Respubliki]. *Problemy osobo opasnykh infektsiy.* 2019; (3): 118–24. <https://doi.org/10.21055/0370-1069-2019-3-118-124> (in Russian)
 20. Balde T.A.L., Boumbaly S., Serikova E.N., Valutite D.E., Shchemelev A.N., Ostankova Yu.V., et al. Comparative analysis of the vertical risk of transmission of some blood-borne infections in the Republic of Guinea [Srvnietel'nyy analiz vertikal'nogo riska peredachi nekotorykh gemokontaknykh infektsiy v Gvineyskoy Respublike]. *Problemy osobo opasnykh infektsiy.* 2021; (1): 87–94. <https://doi.org/10.21055/0370-1069-2021-1-87-94> (in Russian)
 21. Diarra B., Yonli A.T., Sorgho P.A., Compaore T.R., Ouattara A.K., Zongo W.A., et al. Occult hepatitis B virus infection and associated genotypes among HBsAg-negative subjects in Burkina Faso. *Mediterr. J. Hematol. Infect. Dis.* 2018; 10(1): e2018007. <https://doi.org/10.4084/MJHID.2018.007>
 22. Allain J.P., Candotti D. Diagnostic algorithm for HBV safe transfusion. *Blood Transfus.* 2009; 7(3): 174–82. <https://doi.org/10.2450/2008.0062-08>
 23. Garmiri P., Loua A., Haba N., Candotti D., Allain J.P. Deletions and recombinations in the core region of hepatitis B virus genotype E strains from asymptomatic blood donors in Guinea, west Africa. *J. Gen. Virol.* 2009; 90(Pt. 10): 2442–51. <https://doi.org/10.1099/vir.0.012013-0>
 24. Ostankova Yu.V., Semenov A.V., Zueva E.B., Totolian Areg A. The first cases of Hepatitis B virus subgenotype D4 detection in patients with chronic, acute, and occult hepatitis B in the Russian Federation. *Mol. Gen. Microbiol. Virol.* 2020; 35: 221–8. <https://doi.org/10.3103/S0891416820040072>