



ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-175>

© БАЛДЕ Т.А.Л., ОСТАНКОВА Ю.В., БУМБАЛИ С., НАЙДЕНОВА Е.В., ЗУЕВА Е.Б., СЕРИКОВА Е.Н., ВАЛУТИТЕ Д.Э., ЩЕМЕЛЕВ А.Н., ДАВЫДЕНКО В.С., ЭСАУЛЕНКО Е.В., ТОТОЛЯН АРЕГ А., 2023

Частота встречаемости мутаций лекарственной устойчивости и ускользания от иммунного ответа в геноме вируса гепатита В, выявленного у беременных в Гвинейской Республике

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

¹Исследовательский институт прикладной биологии Гвинеи, Киндиа, Гвинейская Республика;

²ФБУН «Санкт-Петербургский НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (Роспотребнадзор), 197101, г. Санкт-Петербург, Россия;

³Международный исследовательский центр по тропическим инфекциям в Гвинеи, Нзерекоре, Гвинейская Республика;

⁴ФКУН «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (Роспотребнадзор), 410005, Саратов, Россия

Введение. Несмотря на все усилия по ограничению передачи вируса гепатита В (ВГВ) от матери ребёнку, понимание течения хронического гепатита В (ХГВ) у беременных женщин всё ещё ограничено. Одним из регионов с крайне высокой распространённостью ХГВ является Африка: здесь суммарное количество больных составляет приблизительно 75 млн человек. Кроме того, серьёзным фактором, способным повлиять как на лечение, так и на вакцинацию профилактики, могут являться мутации вируса. Таким образом, изучение генетической гетерогенности ВГВ является значимым.

Цель работы – оценить распространённость мутаций лекарственной устойчивости и мутаций ускользания от иммунного ответа ВГВ у беременных женщин в Гвинейской Республике.

Материалы и методы. Исследованы образцы плазмы крови, полученные от 480 беременных женщин из разных регионов Гвинейской Республики с лабораторно подтверждённым ВГВ. Нуклеотидные последовательности для определения генотипов и выявления мутаций получали с использованием nested-ПЦР с последующим секвенированием по Сэнгеру на базе перекрывающихся пар праймеров, совместно фланкирующих полный геном вируса.

Результаты и обсуждение. В обследованной группе чаще всего обнаруживали вирус генотипа Е (92,92%) по сравнению с субгенотипами А1 (1,67%), А3 (1,46%), D1 (0,63%), D2 (1,04%) и D3 (2,29%). Среди обследованных ВГВ-инфицированных беременных было выявлено 188 человек (39,17%) с неопределяемым HBsAg. Мутации лекарственной устойчивости вируса были выявлены у 33 человек, что составило 6,88%. Обнаружены следующие мутации: S78T (27,27%), L80I (24,24%), S202I (15,15%), M204I/V (42,42%). Показано также наличие полиморфных вариантов, не описанных как фармакорезистентные, в положениях, связанных с развитием лекарственной устойчивости к тенофовиру, ламивудину, телбивудину и энтекавиру (L80F, S202I, M204R). При анализе MHR и региона детерминанты α мутации выявлены у 318 (66,25%) беременных. Из них у 172 человек, что составило 54,09%, обнаружены множественные мутации. Определено наличие замен в 13 позициях, ассоциированных с HBsAg-негативным ХГВ и (или) потенциально влияющих на антигенность HBsAg.

Заключение. Выявленная среди терапевтически наивных беременных женщин широкая распространённость мутаций иммунного бегства и лекарственной устойчивости, способных приводить к ложноотрицательным результатам скрининга на HBsAg, безуспешной профилактики и вирусологической неэффективности терапии ВГВ-инфекции, представляет собой серьёзную проблему.

Ключевые слова: вирусный гепатит В; скрытый гепатит В; вирус гепатита В; мутации лекарственной устойчивости; мутации вакцинного избегания; клинически значимые мутации; лабораторная диагностика; беременные; Гвинейская Республика

Для цитирования: Балде Т.А.Л., Останкова Ю.В., Бумбали С., Найденова Е.В., Зуева Е.Б., Серикова Е.Н., Валутите Д.Э., Щемелев А.Н., Давыденко В.С., Эсауленко Е.В., Тотолян Арег А. Частота встречаемости мутаций лекарственной устойчивости и ускользания от иммунного ответа в геноме вируса гепатита В, выявленного у беременных в Гвинейской Республике. *Вопросы вирусологии.* 2023; 68(3): 228-241. DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-175> EDN: <https://elibrary.ru/scvbmy>

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

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

Финансирование. Исследования проводились в рамках распоряжений Правительства Российской Федерации № 1448-р от 25 июля 2015 г., № 2904-р от 22 декабря 2017 г. и № 2985-р от 14 ноября 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 города Сонакру (Гвинейская Республика).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии потенциальных конфликтов интересов.

Этическое утверждение. Исследование проводилось при добровольном информированном согласии пациентов. Протокол исследования одобрен решением этического комитета Гвинеи (протокол № 129/CNERS/16 от 31 августа 2015 г.).

Поступила 03.05.2023

Принята в печать 19.06.2023

Опубликована 30.06.2023

ORIGINAL STUDY ARTICLE

DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-175>

Frequency of drug resistance and immune escape mutations in the hepatitis B virus genome detected in pregnant women in the Republic of Guinea

Thierno Amadou Labé Balde¹, Yulia V. Ostankova², Sanaba Boumbaly^{1,3}, Ekaterina V. Naidenova⁴, Elena B. Zueva², Elena N. Serikova², Diana E. Valutite², Alexander N. Shchemelev², Vladimir S. Davydenko², Elena V. Esaulenko², Areg A. Totolian²

¹Research Institute of Applied Biology of Guinea, Kindia, Republic of Guinea;

²Saint-Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russia;

³Centre International de Recherche sur les Infections Tropicales en Guinée, N'Zérékoré, Republic of Guinea;

⁴Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe", Saratov, Russian Federation

The aim of the work is to assess the prevalence of hepatitis B virus drug resistance mutations and immune escape mutations in pregnant women in the Republic of Guinea.

Materials and methods. Blood plasma samples obtained from 480 pregnant women from different regions of the Republic of Guinea with laboratory-confirmed viral hepatitis B were studied. Nucleotide sequences for genotype identification and mutation detection were obtained using nested-PCR followed by Sanger sequencing, based on overlapping pairs of primers spanning the complete genome of the virus.

Results and discussion. In the examined group, the viral genotype E was the most prevalent (92.92%) compared with subgenotypes A1 (1.67%), A3 (1.46%), D1 (0.63%), D2 (1.04%) and D3 (2.29%). Among the examined HBV-infected pregnant women, 188 (39.17%) had undetectable HBsAg. Drug resistance mutations were detected in 33 individuals, which amounted to 6.88%. The following mutations were found: S78T (27.27%), L80I (24.24%), S202I (15.15%), M204I/V (42.42%). The presence of polymorphic variants not described as drug resistant has also been shown in positions associated with the development of drug resistance to tenofovir, lamivudine, telbivudine and entecavir (L80F, S202I, M204R). When analyzing the MHR and the region of a determinant, mutations were detected in 318 (66.25%) of pregnant women. In 172 of them, which amounted to 54.09%, multiple mutations were found. The amino acid substitutions in 13 positions associated with HBsAg-negative hepatitis B and/or potentially affecting HBsAg antigenicity were identified.

Conclusion. The high prevalence of immune escape and drug resistance mutations potentially associated with false-negative result of HBsAg screening, prophylaxis failure, and virological failure of therapy that has been identified among treatment naive pregnant women imposes a serious problem.

Keywords: *viral hepatitis B; occult hepatitis B infection; hepatitis B virus; drug resistance mutations; escape mutations; clinically significant mutations; laboratory diagnostics; pregnant women; Republic of Guinea*

For citation: Balde T.A.L., Ostankova Yu.V., Boumbaly S., Naidenova E.V., Zueva E.B., Serikova E.N., Valutite D.E., Shchemelev A.N., Davydenko V.S., Esaulenko E.V., Totolian Areg A. Frequency of drug resistance and immune escape mutations in the hepatitis B virus genome detected in pregnant women in the Republic of Guinea. *Problems of Virology (Voprosy Virusologii)*. 2023; 68(3): 228-241. DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088--175> EDN: <https://elibrary.ru/scvbmy>

For correspondence: Yulia V. Ostankova, PhD (Biol.), Head of the Laboratory of Immunology and Virology of HIV Infection, Saint Petersburg Pasteur Research Institute of Epidemiology and Microbiology, St. Petersburg, Russia. E-mail: shenna1@yandex.ru

Information about the authors:

Balde T.A.L., <https://orcid.org/0000-0002-3808-4380>
Ostankova Yu.V., <https://orcid.org/0000-0003-2270-8897>
Boumbaly S., <https://orcid.org/0000-0002-4506-6033>
Naidenova E.V., <https://orcid.org/0000-0001-6474-3696>
Zueva E.B., <https://orcid.org/0000-0002-0579-110X>
Serikova E.N., <https://orcid.org/0000-0002-0547-3945>
Valutite D.E., <https://orcid.org/0000-0002-0931-102X>
Shchemelev A.N., <https://orcid.org/0000-0002-3139-3674>
Davydenko V.S., <https://orcid.org/0000-0003-0078-9681>
Esaulenko E.V., <https://orcid.org/0000-0003-3669-1993>
Totolian Areg A., <https://orcid.org/0000-0003-4571-8799>

Contribution: Balde T.A.L. – organization of research, delivery of samples; Ostankova Yu.V. – conducting research, selection of literature, writing an article, statistical data processing, preparation of illustrations; Boumbaly S. – planning and organization of research, delivery of samples; Naidenova E.V. – conducting research, writing an article; Zueva E.B. – conducting research; Serikova E.N. – conducting research; Valutite D.E. – conducting research; Shchemelev A.N. – conducting research; Davydenko V.S. – conducting research; Esaulenko E.V. – managing this stage of research; Totolyan Areg A. – general guidance, writing an article.

Funding. The studies were conducted within the framework of the Orders of the Government of the Russian Federation No. 1448-r of July 25, 2015, No. 2904-r of December 22, 2017, and No. 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 the cities of Conakry (Republic of Guinea).

Conflict of interest. The authors declare no potential conflicts 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 of the Ministry of Health of the Republic of Guinea (Approval No. 129/CNERS/16 dated August 31, 2015).

Received 03 May 2023
Accepted 19 June 2023
Published 30 June 2023

Введение

Вирус гепатита В (ВГВ) является одним из наиболее распространённых гепатотропных вирусов и может вызывать как острое, так и хроническое заболевание печени. В настоящее время более чем 360 млн человек поставлен диагноз «хронический вирусный гепатит В» (ХГВ) [1]. При этом ежегодно регистрируется 1,5 млн новых случаев инфицирования и 887 тыс. случаев смерти от этой хронической инфекции [2]. Основным лабораторным диагностическим маркером заболевания является поверхностный антиген ВГВ (HBsAg), встречаемость которого в популяции зависит от географического региона [3].

Одним из регионов с крайне высокой распространённостью ХГВ является Африка: здесь встречаемость HBsAg превышает 8% и может достигать 25%, а суммарное количество больных составляет приблизительно 75 млн человек, 25% из которых, согласно расчётам, умрут от заболеваний печени [4]. В странах Африки к югу от Сахары, в том числе в её западной части, основными путями передачи являются верти-

кальный – от матери к ребёнку во время родов и горизонтальный – в раннем детстве при тесном бытовом контакте с инфицированными родителями, сиблингами или иными родственниками [2].

Перинатальное и раннее детское инфицирование ВГВ не только приводит к повышенному риску хронизации заболевания, но и является сильным предиктором неблагоприятных долгосрочных исходов цирроза печени и гепатоцеллюлярной карциномы [5]. Критическое значение имеет скрининг на ВГВ всех беременных женщин. Около 75 млн женщин детородного возраста во всём мире больны ХГВ, что составляет около 25,3%. При отсутствии мер профилактики ВГВ частота передачи вируса от матери к ребёнку составляет 31,3% [6]. Сосредоточение внимания на инфицированных женщинах и предоставлении профилактического лечения женщинам с высокой вирусной нагрузкой может быть эффективным подходом к снижению передачи инфекции ребёнку [7]. Учитывая цель Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) по ликвидации к 2030 г. вирусного гепатита как серьёзной угрозы общественному здравоохранению, сокращение передачи вируса от матери ребёнку по-

средством всеобщей вакцинации младенцев и введения иммуноглобулина против ВГВ новорожденным от инфицированных женщин, является приоритетным для профилактики гепатита В (ГВ) [8]. Современные методы терапии редко позволяют излечить ХГВ из-за рефрактерной природы внутриклеточной вирусной репликации кольцевой ковалентно замкнутой ДНК ВГВ, которая находится в ядре инфицированных клеток в виде эписомальной плазмиды и даёт возможность постоянного обновления вирусного пула в организме [9]. Однако уменьшение вирусной нагрузки при лечении беременных женщин значительно снижает риск пренатального инфицирования ребёнка [10]. Несмотря на все усилия по ограничению передачи ВГВ от матери ребёнку, понимание течения ХГВ у беременных женщин всё ещё ограничено. Кроме того, серьёзным фактором, способным повлиять как на лечение, так и на вакцинную профилактику, могут являться мутации вируса. Таким образом, изучение генетической гетерогенности ВГВ является значимой задачей научных исследований.

ВГВ характеризуется высокой степенью генетической гетерогенности и в настоящее время подразделяется на десять генотипов (A–I), которые отличаются друг от друга по составу нуклеотидных последовательностей более чем на 8%. Кроме того, генотипы A, B, C, D, F и H подразделяют на субгенотипы, демонстрирующие дивергенцию нуклеотидных последовательностей в диапазоне от 4 до 7,5% [11]. В большинстве географических регионов за редким исключением преобладают 1–2 основных генотипа и несколько второстепенных, в том числе завезённых из других регионов [12]. Генотипы A, D и E являются наиболее распространёнными, обнаруженными в Африке. При этом ВГВ типа A широко распространён во всем мире и преобладает в странах Южной, Центральной и Восточной Африки, в то время как генотип E доминирует в Западной и Центральной части континента. Однако распространённость этих генотипов может значительно различаться даже в пределах одной страны. Высокая степень генетической изменчивости ВГВ позволяет ему реагировать на эндогенное и экзогенное селективное давление путём дальнейшей модуляции структуры своего генома. Во время длительной инфекции и при различных селективных воздействиях некоторые варианты, особенно в гене *S*, могут эволюционировать и тем самым помочь вирусу избежать терапевтических, профилактических и диагностических мер [13].

Ген оболочки ВГВ имеет три открытые рамки считывания (open reading frames) – PreS1, PreS2 и S, которые кодируют три белка – малый, средний и большой HBsAg, транслируемые с разных матричных РНК. Большой ген *S* ВГВ кодирует белок preS1 (108 а.о.), белок preS2 (55 а.о.) и малый S-белок HBsAg (226 а.о.). Как до, так и после противовирусной терапии мутации в S-области (область малого поверхностного антигена ГВ) в основном происходят в N-концевом регионе (1–99 а.о.) и в большом гидрофильном реги-

оне (major hydrophilic region – MHR) (100–169 а.о.), а не в C-концевой области (170–226 а.о.). При этом MHR, для которого показано относительно большое количество аминокислотных замен, включает детерминанту α (124–147 а.о.), третичная структура которой определяет антигенную специфичность. Таким образом, эффективность вакцинации и терапии может быть снижена из-за появления клинически значимых мутаций: мутаций ускользания от иммунного ответа (escape mutations – EM), мутаций лекарственной устойчивости (ЛУ) и мутаций, влияющих на прогрессирование заболевания [14]. Причём из-за перекрытия генов *S* и обратной транскриптазы (RT) ЛУ в гене *RT* могут приводить к возникновению EM в MHR, и наоборот [15].

Гвинейская Республика, расположенная в Западной Африке, является регионом с высокой распространённостью многих вирусных инфекционных заболеваний, в том числе вызываемых гепатотропными вирусами, что подчёркивает важность эпидемиологической оценки данной территории для определения ситуации по ВГВ [16]. При этом в Гвинее вакцинация против ГВ с 2006 г. включена в национальный календарь иммунизации, но не проводится при рождении. Рекомендованный график включает двукратное введение вакцины в возрасте 2 и 4 месяцев с последующей ревакцинацией в 11 месяцев. В возрасте 11–15 лет ранее невакцинированным подросткам показана вакцинация либо по схеме трёх доз, либо в соответствии с режимом введения двух доз с интервалом не менее 6 месяцев. Тем не менее, согласно отчетам Министерства здравоохранения Гвинеи, охват вакцинацией в стране не превышает 47% населения [17].

В 2021 г. в Гвинее были разработаны новые программные стандарты и процедуры расширенной вакцинации, согласно целям которой в будущем планируется внедрение вакцинации против ГВ при рождении, однако в представленном календаре описано несколько схем вакцинаций – как при рождении, так и, например, трёхкратное введение в 6, 10 и 14 недель. Следует также отметить, что поставки медицинских препаратов, включая вакцины, в Гвинейской Республике крайне ограничены не только из-за высокой для страны стоимости препаратов, но и из-за отсутствия налаженной системы хранения и транспортировки веществ, требующих соблюдения холодовой цепи. Ещё одной проблемой является недоверие населения к врачам, проявляющееся в том числе отказом матерей от вакцинации детей. Обязательного скрининга населения, включая беременных женщин, на HBsAg в Гвинее не проводится. Исследования ГВ ограничены как по количеству, так и по качеству используемых методов диагностики. Так, крайне невелико количество публикаций, посвящённых молекулярно-генетическим особенностям вируса в стране [18]. Ранее мы сообщали о случаях выявления у беременных женщин в Конакри эскаре-мутаций, способных приводить к ускользанию вируса от диагностики при скринировании на HBsAg [19]. Однако подробного анализа именно у беременных женщин в Гвинее не проводили.

Цель нашей работы – оценить распространённость мутаций ЛУ и ускользания от иммунного ответа ВГВ у беременных женщин в Гвинейской Республике.

Материалы и методы

В работе использованы образцы плазмы крови, полученные от 1810 беременных женщин из разных регионов Гвинейской Республики. Возраст обследованных варьировал от 13 до 55 лет и составил в среднем 25,8 года. При этом 402 женщины (22,21%) проживают в сельской местности, а 1408 (77,79%) – в городской. Ни одной из женщин ранее не был поставлен диагноз «вирусный ГВ», для всех обследованных скринирование на маркеры ГВ впервые осуществлялось в рамках настоящего исследования.

Лабораторные исследования проводили на базе Российско-гвинейского научного исследовательского центра эпидемиологии и профилактики инфекционных болезней, расположенного на территории Института прикладной биологии Гвинеи (IRBAG) в префектуре Киндия. На проведение данного этапа работы было получено согласие этического комитета Гвинеи (протокол № 129/CNERS/16 от 31 августа 2015 г.). Все обследованные дали письменное информированное согласие на участие в эксперименте.

Методом иммуоферментного анализа определяли серологические маркеры ГВ (HBsAg, антител анти-HBs IgG, анти-HBcore IgG) с использованием ряда диагностических наборов производства НПО «Диагностические системы» и АО «Вектор-Бест», как было описано ранее [19]. Чувствительность тест-систем, предназначенных для выявления HBsAg, применённых в настоящем исследовании, составила 0,01 МЕ/мл.

Выявление ДНК ВГВ проводили методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с гибридизационно-флуоресцентной детекцией в режиме реального времени с использованием разработанной в ФБУН «Санкт-Петербургский НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера» методики, позволяющей выявлять ДНК ВГВ в биологическом материале при низкой вирусной нагрузке, в том числе при HBsAg-негативном ГВ, чувствительность метода составляет 10 МЕ/мл при экстракции из 100 мкл плазмы [16]. Нуклеотидные последовательности для определения генотипов и выявления мутаций получали путём использования nested-ПЦР с последующим секвенированием по Сэнгеру на базе перекрывающихся пар праймеров, совместно фланкирующих

полный геном вируса, как было показано ранее [20]. Серотипы выявленных изолятов, характеризующие их антигенную специфичность, определяли на основании анализа нуклеотидной последовательности консервативной области детерминанты α HBsAg.

Статистическая обработка данных производилась с помощью пакета программ Microsoft Excel, Prism 5.0. 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 Йейтса. В качестве порога достоверности отличий было определено значение вероятности $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Суммарная встречаемость серологических маркеров ГВ в общей группе составила 56,63% (95% ДИ 54,31–58,93%). Результат анализа распространённости исследованных маркеров ГВ в группе представлен в **табл. 1**.

Следует отметить, что, хотя у 37,13% беременных выявляли антитела анти-HBs IgG, только одна женщина сообщила о получении вакцинации против ГВ, во всех остальных случаях, по всей видимости, антитела имеют естественное происхождение за счёт контакта с вирусом.

При оценке распространённости молекулярно-биологического маркера ГВ ДНК вируса выявили у 480 женщин, что составило 26,52% случаев (95% ДИ 24,5–28,62%).

Распространённость ДНК ВГВ в городской и сельской местности составила 26,92% (95% ДИ 24,62–29,32%) и 25,12% (95% ДИ 20,96–29,66%) соответственно. Таким образом, достоверных различий не выявлено.

Хотя число подростковых беременностей в мире постепенно снижается, количество фактических случаев среди девушек-подростков в странах Африки не сокращается. Несмотря на определённый законодательством Гвинейской Республики возраст совершеннолетия (18 лет), всё ещё велико влияние местных культурных традиций, согласно которым девочку считают готовой для бракосочетания и деторождения с возраста появления менархе. Распределение по воз-

Таблица 1. Распространённость серологических маркеров ГВ (HBsAg, анти-HBcore IgG, анти-HBs IgG) в обследованной группе (n = 1810)
Table 1. Prevalence of HBV serological markers (HBsAg, anti-HBcore IgG, anti-HBs IgG) in the examined group (n = 1810)

Выявленные серологические маркеры Detected serological markers	Беременные женщины, n (%) Pregnant women, n (%)	95% доверительный интервал, % 95% Confidence Intervals, %
HBsAg+	292 (16,13)	14,47–17,91
HBs IgG+	672 (37,13)	34,90–39,40
HBcore IgG+	885 (48,90)	46,57–51,23
Серонегативные / Seronegative	785 (43,37)	41,07–45,69

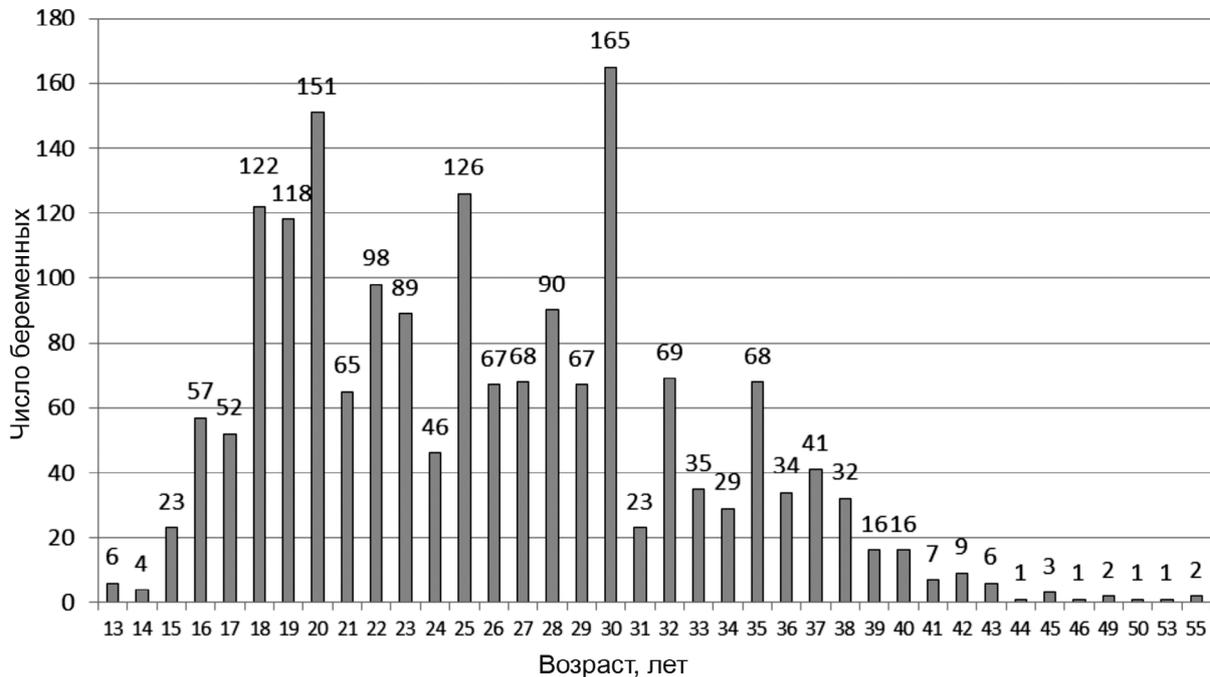


Рис. 1. Распределение по возрастам беременных женщин в обследуемой группе.

Fig. 1. Age distribution of pregnant women in the study group.

Таблица 2. Распространённость ДНК ВГВ в разных возрастных группах

Table 2. Prevalence of HBV DNA in different age groups

Возрастные группы Age groups	Беременные женщины, n (%) Pregnant women, n (%)	95% доверительный интервал, % 95% Confidence Intervals, %
13–17 лет / years	45 (31,69)	24,14–40,02
13–19 лет / years	126 (32,98)	28,29–37,95
18–35 лет / years	381 (25,47)	23,28–27,76
>35 лет / years	54 (31,4)	24,55–38,9

растам беременных в обследованной группе представлено на рис. 1.

С учётом того, что ВОЗ рассматривает беременность в возрасте до 19 лет включительно как подростковую, приводящую к повышенному риску системных инфекций и развития таких гинекологических заболеваний, как послеродовой эндометрит и эклампсия, для выявления закономерности встречаемости ДНК ВГВ относительно возрастного варьирования было проведено ранжирование группы по возрастам и отдельно рассмотрены группы от 13 до 17 лет (142 человека, 7,85% от общей группы), от 13 до 19 лет (382 человека, 21,1% от общей группы), от 18 до 35 лет (1496 человек, 82,65% от общей группы) и старше 35 лет (172 человека, 9,5% от общей группы). Результаты представлены в табл. 2.

Показаны достоверные различия в распространённости ДНК ВГВ между возрастными группами 13–19 и 18–35 лет: $\chi^2 = 8,346$ при $p = 0,0039$, $df = 1$, $RR = 1,295$ при 95% ДИ 1,096–1,531%. Однако различия между группами 13–17 и 18–35 лет не обнаружено: $p = 0,1297$.

На основании филогенетического анализа 480 изолятов показано, что в обследованной группе наиболее часто обнаруживали вирус генотипа E (92,92%; 95% ДИ 90,24–95,05%), в значительно меньшей степени представлены генотипы A (3,13%; 95% ДИ 1,76–5,1%) и D (3,96%; 95% ДИ 2,4–6,11%). При более глубоком типировании преобладал ВГВ генотипа E (92,92%; 95% ДИ 90,24–95,05%) по сравнению с субгенотипами A1 (1,67%; 95% ДИ 0,72–3,26%), A3 (1,46%; 95% ДИ 0,59–2,98%), D1 (0,63%; 95% ДИ 0,13–1,82%), D2 (1,04%; 95% ДИ 0,34–2,41%) и D3 (2,29%; 95% ДИ 1,15–4,06%) (рис. 2).

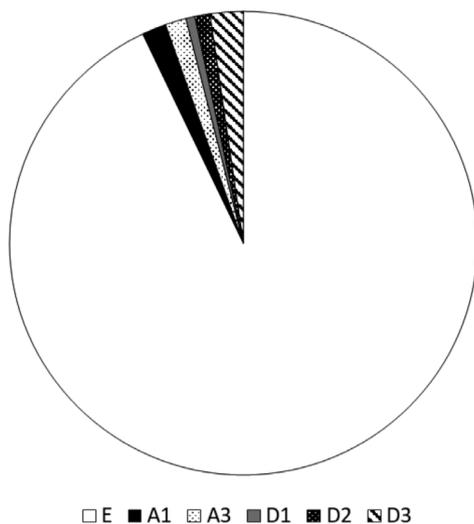


Рис. 2. Распределение субгенотипов вируса гепатита В в обследованной группе.

Fig. 2. Distribution of HBV subgenotypes in the examined group.

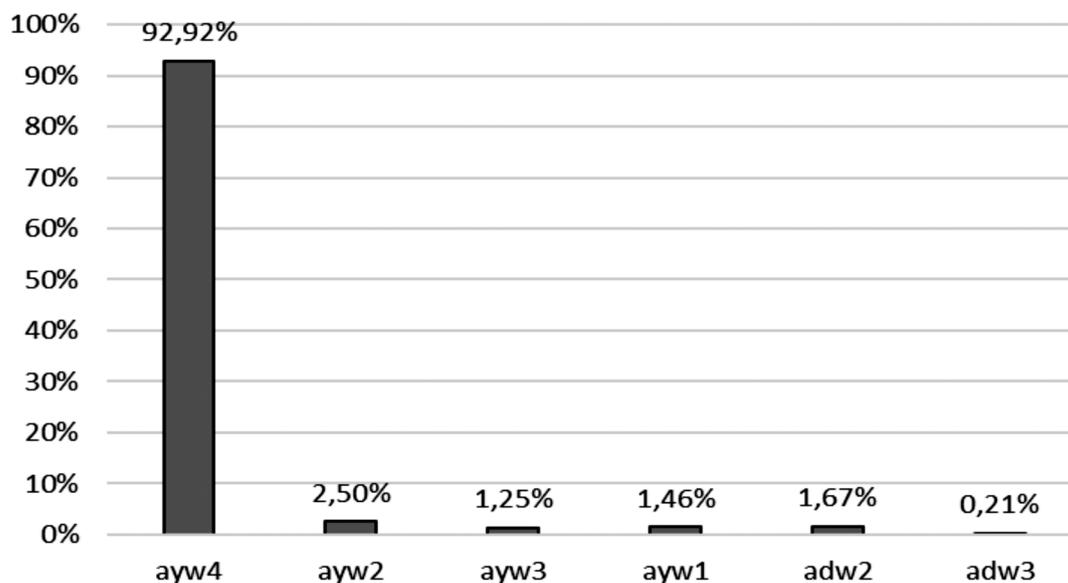


Рис. 3. Распределение серотипов вируса гепатита В в обследованной группе.

Fig. 3. Distribution of HBV serotypes in the examined group.

При определении серологического подтипа обнаруженных изолятов чаще всего удалось выявить серотип ayw4 (92,92%; 95% ДИ 90,24–95,05%), к которому принадлежали все изоляты генотипа E. Соответственно, в значительно меньшей степени представлены серотипы ayw2 (2,5%; 95% ДИ 1,3–4,33%), ayw3 (1,25%; 95% ДИ 0,46–2,7%), ayw1 (1,46%; 95% ДИ 0,59–2,98%), adw2 (1,67%; 95% ДИ 0,72–3,26%) и adw3 (0,21%; 95% ДИ 0,01–1,16%) (рис. 3). При этом для генотипа A определены два серотипа – ayw1 и adw2, в то время как для генотипа D показаны три – ayw2, ayw3 и adw3.

Распределение генотипов ВГВ в группе сопоставимо с данными о циркулирующих в регионе вариантах вируса. Так, ранее мы сообщали о преобладании в Гвинейской Республике ВГВ генотипа E среди доноров крови (85,53%) [21]. В странах-соседях также показано доминирование генотипа E. Например, в Мали встречаемость указанного генотипа составляет 91,1%, в Кот-д'Ивуаре – 87,4%, а в Сенегале и Буркина-Фасо – 75 и 72% соответственно [22]. Хотя ВГВ генотипа E широко распространён в странах Африки к югу от Сахары, этот вариант возбудителя характеризуется низкой вариабельностью генома, что, предположительно, может говорить о его сравнительно коротком эволюционном пути. В то же время для генотипа E показана эпидемиологическая связь с HBsAg-негативным вариантом, а также развитием мутаций ЛУ и вакцинного ускользания [22]. Среди обследованных нами ВГВ-инфицированных беременных было выявлено 188 человек (39,17%; 95% ДИ 34,77–43,69%) с неопределяемым HBsAg. Из них 113 женщин были в возрасте до 30 лет, что составило 60,11% (95% ДИ 52,73–67,6%) от всех беременных со скрытым ГВ (скГВ). При этом распределение генотипов

вируса при HBsAg-негативных и позитивных случаях не отличалось: $p = 0,9914$. Так, встречаемость ВГВ генотипа E составила 92,55% (95% ДИ 87,82–95,87%) среди лиц с скГВ и 93,15% (95% ДИ 89,62–95,77%) – среди HBsAg-позитивных беременных, что сопоставимо с общей представленностью указанного генотипа в обследованной группе – 92,92%. При этом ни нуклеотидные, ни аминокислотные последовательности Pre-S1/Pre-S2/S области ВГВ от лиц с скГВ не показали каких-либо признаков кластеризации, а были распределены среди последовательностей, полученных от HBsAg-позитивных лиц. Филогенетическое дерево, включающее исследованные изоляты ВГВ генотипов A и D, представлено на рис. 4.

Фрагмент филогенетического дерева ВГВ генотипа E представлен на рис. 5.

Можно предположить, что встречаемость HBsAg-негативного ГВ у молодых женщин связана с особенностями передачи инфекции в странах Африки, в частности, с преимущественным инфицированием в раннем детстве, в том числе вертикальным путём.

Значительное количество мутаций было обнаружено в MHR и RT-регионе. Генетические изменения, связанные с аминокислотными заменами в домене RT, классифицируют как первичные мутации ЛУ и вторичные компенсаторные мутации, восстанавливающие репликационную способность вируса. В настоящей работе при анализе региона RT генома ВГВ мутации ЛУ вируса были выявлены у 33 человек, что составило 6,88% (95% ДИ 4,78–9,52%) случаев. При анализе 33 изолятов, полученных от лиц с фармакорезистентными вариантами вируса, мутации ЛУ были обнаружены в следующих соотношениях: S78T (27,27%; 95% ДИ 13,3–45,52%), L80I (24,24%; 95% ДИ 11,09–42,26%), S202I (15,15%; 95% ДИ 5,11–31,9%), M204I/V (42,42%; 95% ДИ 25,48–

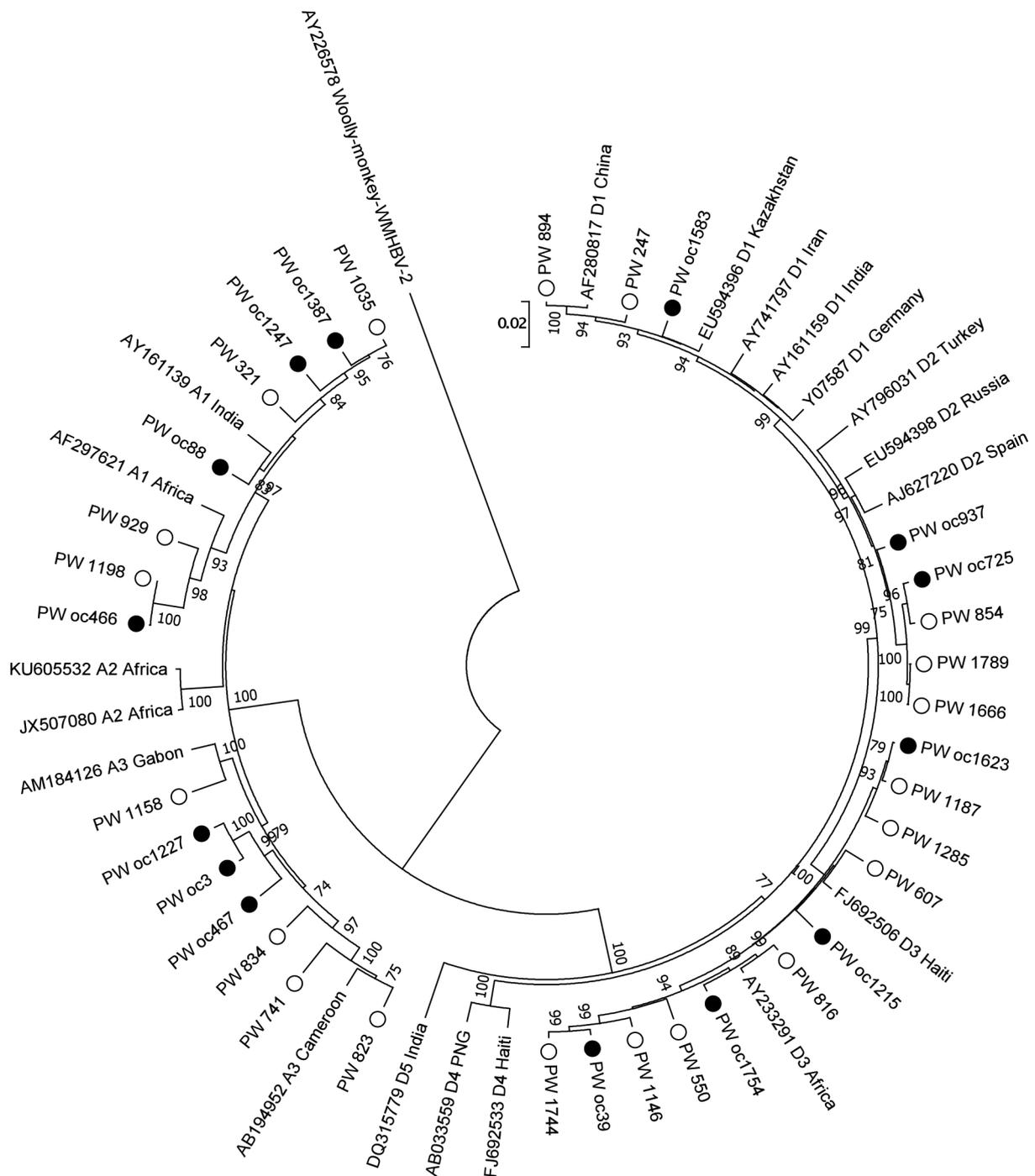


Рис. 4. Филогенетический анализ нуклеотидных последовательностей полных геномов вируса гепатита В генотипов А и D, выделенных от беременных, проживающих в Гвинейской Республике, в сравнении с представленными в международной базе данных GenBank референсными последовательностями. Референсные последовательности обозначены кодами GenBank с указанием генотипа и региона происхождения образца. Как внешняя группа использована нуклеотидная последовательность вируса гепатита В шерстистой обезьяны AY226578. Исследованные в настоящей работе образцы обозначены белыми (HBsAg+) и чёрными кружками (HBsAg-). Даны значения bootstrap ≥ 70 .

Fig. 4. Phylogenetic tree for HBV complete genome nucleotide sequences of genotypes A and D isolated from pregnant women living in the Republic of Guinea in comparison with the reference sequences presented in the GenBank database. Reference sequences are designated with GenBank accession numbers and indicated genotype and the region of the sample origin. The Woolly Monkey HBV nucleotide sequence AY226578 was used as the outgroup. The sequences from this study are indicated by white circles (HBsAg+) and black circles (HBsAg-). Bootstrap values ≥ 70 .

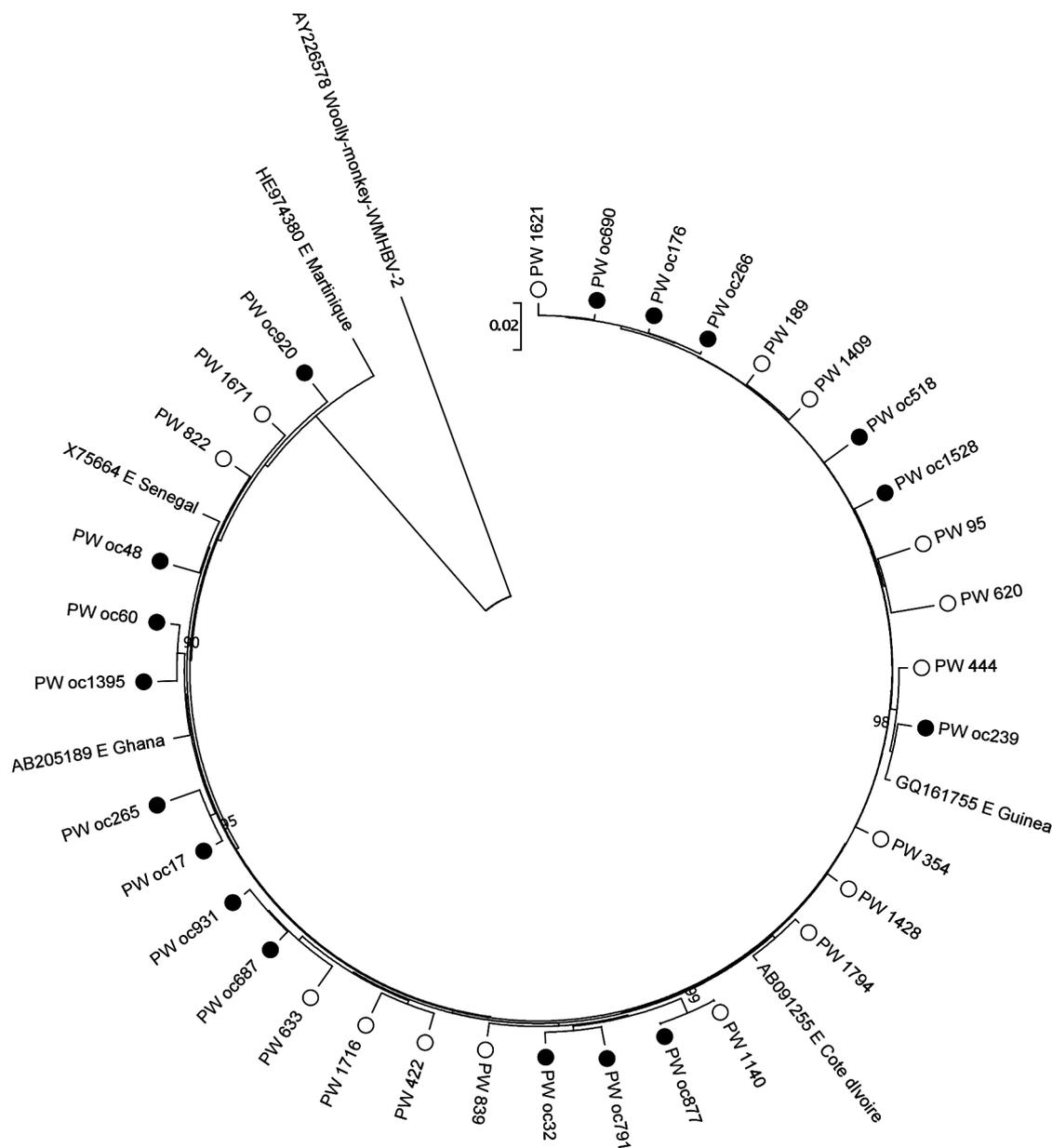


Рис. 5. Филогенетический анализ некоторых нуклеотидных последовательностей полных геномов вируса гепатита В генотипа Е, выделенных от беременных, проживающих в Гвинейской Республике, в сравнении с представленными в международной базе данных GenBank референсными последовательностями. Референсные последовательности обозначены кодами GenBank с указанием генотипа и региона происхождения образца. Как внешняя группа использована нуклеотидная последовательность вируса гепатита В шерстистой обезьяны AY226578. Исследованные в настоящей работе образцы обозначены белыми (HBsAg+) и чёрными кружками (HBsAg-). Даны значения bootstrap ≥ 70 .

Fig. 5. Phylogenetic tree for some HBV complete genome nucleotide sequences of genotype E isolated from pregnant women living in the Republic of Guinea in comparison with the reference sequences presented in the GenBank database. Reference sequences are designated with GenBank accession numbers and indicated genotype and the region of the sample origin. The Woolly Monkey HBV nucleotide sequence AY226578 was used as the outgroup. The samples studied in this work are indicated by white circles (HBsAg+) and black circles (HBsAg-). Bootstrap values ≥ 70 .

60,78%). При этом у одного человека выявлено сочетание S78T + L204I, у трёх – L80I + M204I/V.

В Гвинейской Республике наиболее распространённым терапевтическим препаратом по отношению к ВГВ является Атрипла (Atripla), включающий эфавиренз, эмтрицитабин и тенофовир, используется также ламивудин. В связи с этим выявление мутаций

ЛУ к тенофовиру и ламивудину не вызывает удивления. Однако тенофовир имеет высокий генетический барьер устойчивости и поддерживает эффективное подавление ВГВ как у моноинфицированных, так и у лиц с коинфекцией вирусом иммунодефицита человека (ВИЧ)/ВГВ [13]. Кроме того, все обследованные нами беременные отрицали получение препарата

или какое-либо иное лечение. Можно предположить, что источником обнаружения мутаций у терапевтически наивных женщин являлось заражение несущим мутацию вирусом от получавших терапию партнеров с низкой или средней приверженностью к лечению. Ещё одной причиной возникновения таких генетических изменений может оказаться естественный полиморфизм вируса. Косвенно подтверждает это предположение обнаружение мутаций только у пациенток с ВГВ генотипа E, а также наличие полиморфных вариантов, не описанных как фармакорезистентные, в положениях, связанных с развитием ЛУ к тенофовиру, ламивудину, телбивудину и энтекавиру (L80F, S202I, M204R). В некоторых регионах Африки обнаруженные нами мутации ЛУ встречались у терапевтически наивных лиц гораздо чаще, чем в странах Европы или Америки [13]. Отдельного внимания заслуживает мутация S78T, так как, наряду с повышенной продукцией транскриптов вируса и устойчивой секрецией вирусных частиц при отсутствии антигенных доменов белка S, эта аминокислотная замена может предрасполагать к канцерогенным эффектам [23]. Отметим, что в наших исследованиях вирусного ГВ в Гвинейской Республике таких мутаций не выявлено ранее ни среди ВИЧ-инфицированных лиц, ни среди условно здоровых людей и доноров крови, хотя аминокислотные замены в связанных с ЛУ позициях обнаруживали. Необходимо также сказать, что в то время как для ВИЧ-инфекции определён уровень (> 5%) распространённости первичных мутаций ЛУ у не получавших лечения лиц, выше которого мутации ЛУ ВИЧ представляют собой серьёзное препятствие для успешного лечения на популяционном уровне, требующее введения на территории анализа первичной резистентности у всех инфицированных лиц с последующим выбором схемы терапии, для ВГВ нет рекомендаций по установлению какого-либо конкретного порога распространённости таких мутаций. Представляется очевидным, что определение сходных пороговых значений и рекомендаций для ВГВ могло бы способствовать усовершенствованию анализа эпидемиологической ситуации в том или ином регионе, а также унификации подходов к лечению.

Из-за перекрывания генов, кодирующих RT и HBsAg, мутации ЛУ могут вызывать генетические изменения и в MHR. На сегодняшний день идентифицировано более 30 мутаций HBsAg, приводящих к ускользанию вируса от иммунитета: они позволяют вирусу уклоняться от нейтрализующих антител, способствуют персистентной инфекции ВГВ и приспособляемости вируса. Иммуноассоциированные EM также могут мешать распознаванию HBsAg антителами, индуцированными вакциной, что представляет собой потенциальную угрозу для глобальной программы вакцинации [24].

При анализе MHR и региона детерминанты α , являющейся кластером основных эпитопов В-клеток, расположенных между 124 и 147 (или 149) а.о., мутации выявлены у 318 из 480 беременных (66,25%; 95% ДИ 61,83–70,47%). В 172 случаях из 318 человек определяемыми

мутациями в детерминанте α обнаружены множественные генетические изменения, что составило 54,09% (95% ДИ 48,44–59,66%). Показано наличие замен в 15 позициях, ассоциированных с скГВ и (или) потенциально влияющих на антигенность HBsAg. Наиболее распространённые в обследуемой группе ВГВ-инфицированных беременных клинически значимые мутации представлены в **табл. 3**.

Среди мутаций ЛУ в регионе RT, выявленных в настоящей работе, только две приводят к значимым аминокислотным заменам в S-регионе генома вируса. Так, мутация tS78T соответствует мутации sC69*, представляющей собой преждевременный стоп-кодон, приводящий к удалению почти всего малого поверхностного белка вируса [23]. В свою очередь, полиморфизм tM204I/V приводит к двум мутациям в S-гене: sI195M, связанной со снижением реактивности антител к эпитопам в первой или второй петле или в обеих петлях белка [25], и sW196*, приводящей к укорочению С-конца белка, способствующей трансформации клеток и ассоциированной с высоким онкогенным потенциалом за счёт изменённой экспрессии генов хозяина [26, 27].

Ранее было показано, что средняя частота мутаций в гене, кодирующем HBsAg, составляет 11% в популяциях Северной Америки и увеличивается до 47% у больных ХГВ в Южной Корее, а частота мутаций в MHR колеблется от 57,5% для ВГВ генотипа А до 100% для генотипа D, составляя 59,9% для генотипа E [28], что не противоречит высокому уровню замен, выявленному нами в обследованной группе.

Среди выявленных нами мутаций две (Y100C, M103I) ассоциированы с развитием HBsAg-негативного ХГВ [29]. Мутация I110L связана с резистентностью к иммуноглобулину. Десять мутаций (T127P, Q129H/R, M133I, Y134H, C137Y, S140L, K141E, D144E, G145R, Y147C) определены в детерминантной области. Отметим, что наиболее распространёнными полиморфными вариантами, связанными с иммунологическим ускользанием и обнаруживаемыми в изолятах ВГВ в генотипе E, являются T116N, P120L/S, Q129H/R, M133I, D144E и G145I [30], однако в обследованной нами группе последние две мутации встречались сравнительно редко. Поскольку MHR состоит из двух петель между cys124 и cys137, а также cys139 и cys147, мутации в этой области разрушают дисульфидные мостики. Исследования предсказания их структуры *in silico* показали, что трёхмерная конформация экстравирионной петли изолятов с заменами аминокислот между остатками 133 и 144 отличается от конформации генотипа E дикого типа [31]. Такие замены могут приводить к продукции поверхностного антигена, отличного от обычного и, соответственно, не обнаруживаемого при скринировании [32, 33]. Мутация G145R также может нарушать секрецию HBsAg и приводить к реинфекции в тканях печени, несмотря на защитные титры анти-HBs [34]. Мутация Y147C способствует репликации на стадии синтеза вирусной ДНК и, учитывая необходимость

Таблица 3. Наиболее распространённые клинически значимые мутации, выявленные в регионе Pre-S1/Pre-S2/S в обследуемой группе (n = 480)**Table 3. The most prevalent clinically significant mutations identified in the Pre-S1/Pre-S2/S-region sequences from the examined group (n = 480)**

Область генома ВГВ HBV genome region	Мутация Mutation	Частота встречаемости в группе Frequency of occurrence in the group	Генотип Genotype
RT	S78T	9 (1,88%; 95% ДИ 0,86–3,53%)	E
RT	L80I	8 (1,67%; 95% ДИ 0,72–3,26%)	E
RT	S202I	5 (1,04%; 95% ДИ 0,34–2,41%)	E
RT	M204I/V	14 (2,92%; 95% ДИ 1,60–4,85%)	E
RT	L80F	17 (3,54%; 95% ДИ 2,08–5,61%)	E
RT	S202R	19 (3,96%; 95% ДИ 2,40–6,11%)	E
RT	M204R	53 (11,04%; 95% ДИ 8,38–14,19%)	E
MHR	Y100C	21 (4,38%; 95% ДИ 2,73–6,61%)	A, E
MHR	M103I	13 (2,71%; 95% ДИ 1,45–4,59%)	E
MHR	I110L	65 (13,54%; 95% ДИ 10,61–16,93%)	A, D, E
MHR	T116N	58 (12,08%; 95% ДИ 9,30–15,34%)	E
MHR	P120L/S	94 (19,58%; 95% ДИ 16,13–23,42%)	E
MHR	T127P	27 (5,63%; 95% ДИ 3,74–8,08%)	D, E
MHR	Q129H/R	34 (7,08%; 95% ДИ 4,95–9,76%)	D, E
MHR	M133I	110 (22,92%; 95% ДИ 19,23–26,94%)	A, D, E
MHR	Y134H	31 (6,46%; 95% ДИ 4,43–9,04%)	E
MHR	C137Y	46 (9,58%; 95% ДИ 7,10–12,58%)	E
MHR	S140L	19 (3,96%; 95% ДИ 2,40–6,11%)	E
MHR	K141E	39 (8,13%; 95% ДИ 5,84–10,94%)	E
MHR	D144E	15 (3,13%; 95% ДИ 1,76–5,1%)	E
MHR	G145R	28 (5,83%; 95% ДИ 3,91–8,32%)	E
MHR	Y147C	23 (4,79%; 95% ДИ 3,06–7,1%)	E

дисульфидной связи Cys-Cys в поддержании конформации для антигенности HBsAg, приводит к прорыву инфекции у вакцинированных больных [35]. Ряд мутаций, потенциально способных влиять на обнаружение HBsAg, были выявлены вне детерминантной области – G159A, E164G, A166V, S167L, A168V [29].

Последовательность генотипа ВГВ, используемого для вакцин, потенциально может влиять на иммуногенность против невакцинных генотипов, но данные, подтверждающие это, ограничены [36]. Более вероятно, что возникновение ВГВ-инфекции, даже несмотря на иммунопрофилактику, связано либо с вертикальной передачей вируса с ЕМ, либо в результате отбора мутаций *de novo*, особенно в условиях отсроченной вакцинации. Для предотвращения вертикальной передачи вируса ВОЗ рекомендует, чтобы все новорождённые, независимо от статуса инфицирования матери, получали первую дозу вакцины против ГВ как можно скорее после рождения, предпочтительно в течение 24 ч, а затем 2 или 3 дозы вакцины с интервалом не менее 4 недель, чтобы завершить серию вакцинации [1]. Однако доступ к вакцине при рождении по-прежнему ограничен во многих странах с низ-

ким уровнем дохода. Среди 47 стран Африканского региона только 13 внедрили к 2020 г. моновалентную вакцинацию против ГВ, запланированную при рождении [37]. В большинстве же африканских стран, где иммунизация против ГВ только внедряется на государственном уровне, как в Гвинейской Республике, вакцинация откладывается до 6-недельного возраста [38]. Кроме того, трудности проведения своевременной профилактики возникли из-за высокой частоты родов в домашних условиях, отказом матерей приносить новорождённых на осмотр и (или) вакцинацию [39, 40]. Можно предположить, что эта задержка не только создаёт окно для инфекции, но также увеличивает вероятность передачи ЕМ и (или) появления новых мутаций ускользания.

Появление в популяции ЕМ с высокой частотой встречаемости является серьёзной проблемой для лиц с ослабленным иммунитетом, о чём свидетельствует исследование R. Salpini и соавт., продемонстрировавших, что у 75% больных с иммуносупрессией и реактивацией ВГВ несёт по крайней мере одну мутацию в области Pre-S1/Pre-S2/S, преимущественно локализованную в MHR [41].

Отметим при этом, что мутации ускользания от иммунного ответа часто встречаются не сами по себе, а в сочетании со значимыми аминокислотными заменами в генах *Pol* и *Core*, связанными с ЛУ вируса или повышенным риском развития цирроза печени и гепатоцеллюлярной карциномы. Поэтому важно понимать функциональные последствия ЕМ для репликации ВГВ, так как их наличие приводит к увеличению распространённости необнаруживаемых вариантов вируса, несущих значимые для лечения и прогрессирования заболевания мутации. Обнаружение сосуществования сложных мутантов ВГВ, например, иммунного ускользания и ЛУ, представляет собой серьёзную проблему, требующую корректировки противовирусной терапии и профилактики инфицирования, так как могут приводить к заболеванию вакцинированных лиц.

Заключение

Хотя информация о генетическом разнообразии ВГВ и клинически значимых мутациях имеет решающее значение для ведения пациентов, эти данные в Гвинейской Республике ограничены. Учитывая глобальное значение болезни, вызванной данным возбудителем, и многогранное влияние вариаций белка HBsAg на результаты диагностики, клиническое течение и эффективность лечения, всестороннее знание разнообразия и частоты мутаций имеет важное значение. Выявленная среди терапевтически наивных беременных женщин широкая распространённость мутаций иммунного бегства и ЛУ, способных приводить к ложноотрицательным результатам скрининга на HBsAg, безуспешной профилактике и вирусологической неэффективности терапии ВГВ-инфекции, является серьёзной проблемой. Своевременное обнаружение патогена, генотипирование, определение клинически значимых мутаций необходимы для профилактики вертикального инфицирования, лечения заболевания, а также выявления путей распространения вируса и планирования программы иммунизации в Гвинейской Республике.

ЛИТЕРАТУРА

1. WHO. Hepatitis B. Key facts. Available at: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/hepatitis-b>
2. WHO. Global progress report on HIV, viral hepatitis and sexually transmitted infections, 2021: Accountability for the global health sector strategies 2016–2021: Actions for impact. Web Annex 2: Data Methods. Available at: <https://www.who.int/publications/item/9789240027077>
3. GBD 2019 Hepatitis B Collaborators. Global, regional, and national burden of hepatitis B, 1990–2019: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019. *Lancet Gastroenterol. Hepatol.* 2022; 7(9): 796–829. [https://doi.org/10.1016/S2468-1253\(22\)00124-8](https://doi.org/10.1016/S2468-1253(22)00124-8)
4. Schweitzer A., Horn J., Mikolajczyk R.T., Krause G., Ott J.J. Estimations of worldwide prevalence of chronic hepatitis B virus infection: a systematic review of data published between 1965 and 2013. *Lancet.* 2015; 386(10003): 1546–55. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(15\)61412-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(15)61412-X)
5. Kao J.H. Hepatitis B vaccination and prevention of hepatocellular carcinoma. *Best Pract. Res. Clin. Gastroenterol.* 2015; 29(6): 907–17. <https://doi.org/10.1016/j.bpg.2015.09.011>
6. Yao N., Fu S., Wu Y., Tian Z., Feng Y., Li J., et al. Incidence of mother-to-child transmission of hepatitis b in relation to maternal peripartum antiviral prophylaxis: A systematic review and me-

ta-analysis. *Acta Obstet. Gynecol. Scand.* 2022; 101(11): 1197–206. <https://doi.org/10.1111/aogs.14448>

7. Pan C.Q., Duan Z., Dai E., Zhang S., Han G., Wang Y., et al. Tenofovir to prevent hepatitis B transmission in mothers with high viral load. *N. Engl. J. Med.* 2016; 374(24): 2324–34. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1508660>
8. Terrault N.A., Lok A.S.F., McMahon B.J., Chang K.M., Hwang J.P., Jonas M.M., et al. Update on prevention, diagnosis, and treatment of chronic hepatitis B: aASLD 2018 hepatitis B guidance. *Hepatology.* 2018; 67(4): 1560–99. <https://doi.org/10.1002/hep.29800>
9. Nassal M. HBV cccDNA: viral persistence reservoir and key obstacle for a cure of chronic hepatitis B. *Gut.* 2015; 64(12): 1972–84. <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2015-309809>
10. Akinbodewa A.A., Gbadegesin B.A., Adejumo O.A., Ahmed S.D., Uwameiye O., Dada S.A., et al. A multicentre study of awareness and practice of vaccination against infectious diseases among haemodialysis subjects in Nigeria. *West Afr. J. Med.* 2019; 36(3): 239–45.
11. Kramvis A. Molecular characteristics and clinical relevance of African genotypes and subgenotypes of hepatitis B virus. *S. Afr. Med. J.* 2018; 108(8b): 17–21. <https://doi.org/10.7196/SAMJ.2018.v108i8b.13495>
12. Stasi C., Silvestri C., Voller F. Emerging trends in epidemiology of hepatitis B virus infection. *J. Clin. Transl. Hepatol.* 2017; 5(3): 272–6. <https://doi.org/10.14218/JCTH.2017.00010>
13. Mokaya J., McNaughton A.L., Hadley M.J., Beloukas A., Geretti A.M., Geodhals D. A systematic review of hepatitis B virus (HBV) drug and vaccine escape mutations in Africa: A call for urgent action. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2018; 12(8): e0006629. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0006629>
14. Phan N.M.H., Faddy H.M., Flower R.L., Dimech W.J., Spann K.M., Roulis E.V. Low genetic diversity of hepatitis B virus surface gene amongst Australian blood donors. *Viruses.* 2021; 13(7): 1275. <https://doi.org/10.3390/v13071275>
15. Hossain M.G., Ueda K. Investigation of a novel hepatitis B virus surface antigen (HBsAg) escape mutant affecting immunogenicity. *PLoS One.* 2017; 12(1): e0167871. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0167871>
16. Останкова Ю.В., Серикова Е.Н., Семенов А.В., Тотолян Арег А. Метод выявления в биологическом материале ДНК вируса гепатита В при низкой вирусной нагрузке на основе гнездовой ПЦР с детекцией по трем вирусным мишеням в режиме реального времени. *Клиническая лабораторная диагностика.* 2022; 67(9): 530–7. <https://doi.org/10.51620/0869-2084-2022-67-9-530-537> <https://elibrary.ru/qndbzr>
17. Попова А.Ю., Кутырева В.В., Тотолян Арег А., ред. *Генетика В в странах Западной Африки: эпидемиология, диагностика, профилактика.* СПб.; 2021.
18. Garmiri P., Loua A., Naba 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>
19. 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> <https://elibrary.ru/upnyfx>
20. Boumbaly S., Serikova E.N., Balde T.A.L., Ostantkova Yu.V., Schemelev A.N., Valutite D.E., et al. Amino acid substitutions in core and HBsAg regions of hepatitis B virus in patients with mono-infection and HBV/HIV-coinfection in the Republic of Guinea. *HIV Infection and Immunosuppressive Disorders.* 2021; 13(3): 122–33. <https://doi.org/10.22328/2077-9828-2021-13-3-122-133>
21. Бумбали С., Балде Т.Л., Семенов А.В., Останкова Ю.В., Серикова Е.Н., Найденова Е.В. и др. Распространённость 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> <https://elibrary.ru/zybhjz>
22. Ingasia L.A.O., Kostaki E.G., Paraskevis D., Kramvis A. Global and regional dispersal patterns of hepatitis B virus genotype E from and in Africa: A full-genome molecular analysis. *PLoS One.* 2020; 15(10): e0240375. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0240375>

23. Shirvani-Dastgerdi E., Winer B.Y., Celià-Terrassa T., Kang Y., Tabernero D., Yagmur E., et al. Selection of the highly replicative and partially multidrug resistant rtS78T HBV polymerase mutation during TDF-ETV combination therapy. *J. Hepatol.* 2017; 67(2): 246–54. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2017.03.027>
24. Colagrossi L., Hermans L.E., Salpini R., Di Carlo D., Pas S.D., Alvarez M., et al. HEPVIR working group of the European Society for translational antiviral research (ESAR). 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>
25. Sloan R.D., Ijaz S., Moore P.L., Harrison T.J., Teo C.G., Tedder R.S. Antiviral resistance mutations potentiate hepatitis B virus immune evasion through disruption of its surface antigen a determinant. *Antivir. Ther.* 2008; 13(3): 439–47.
26. Wang M.L., Tang H. Nucleos(t)ide analogues causes HBV S gene mutations and carcinogenesis. *Hepatobiliary Pancreat. Dis. Int.* 2016; 15(6): 579–86. [https://doi.org/10.1016/s1499-3872\(16\)60064-4](https://doi.org/10.1016/s1499-3872(16)60064-4)
27. Lai M.W., Liang K.H., Yeh C.T. Hepatitis B virus preS/S truncation mutant rtM204I/sW196* increases carcinogenesis through deregulated HIF1A, MGST2, and TGFβ. *Int. J. Mol. Sci.* 2020; 21(17): 6366. <https://doi.org/10.3390/ijms21176366>
28. Gencay M., Hübner K., Gohl P., Seffner A., Weizenegger M., Neofytos D., et al. Ultra-deep sequencing reveals high prevalence and broad structural diversity of hepatitis B surface antigen mutations in a global population. *PLoS One.* 2017; 12(5): e0172101. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0172101>
29. Lazarevic I., Banko A., Miljanovic D., Cupic M. Immune-escape hepatitis B virus mutations associated with viral reactivation upon immunosuppression. *Viruses.* 2019; 11(9): 778. <https://doi.org/10.3390/v11090778>
30. Adesina O.A., Akanbi O.A., Opaleye O.O., Japhet M.O., Wang B., Oluyeye A.O., et al. Detection of Q129H immune escape mutation in apparently healthy hepatitis B virus carriers in southwestern Nigeria. *Viruses.* 2021; 13(7): 1273. <https://doi.org/10.3390/v13071273>
31. Faleye T.O., Adewumi O.M., Ifeorah I.M., Akere A., Bakarey A.S., Omoruyi E.C., et al. Detection and circulation of hepatitis B virus immune escape mutants among asymptomatic community dwellers in Ibadan, southwestern Nigeria. *Int. J. Infect. Dis.* 2015; 39: 102–9. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2015.08.008>
32. Powell E.A., Gededzha M.P., Rentz M., Rakgole N.J., Selabe S.G., Seleise T.A., et al. Mutations associated with occult hepatitis B in HIV-positive South Africans. *J. Med. Virol.* 2015; 87(3): 388–400. <https://doi.org/10.1002/jmv.24057>
33. Olagbenro M., Anderson M., Gaseitsiwe S., Powell E.A., Gededzha M.P., Selabe S.G., et al. In silico analysis of mutations associated with occult hepatitis B virus (HBV) infection in South Africa. *Arch. Virol.* 2021; 166(11): 3075–84. <https://doi.org/10.1007/s00705-021-05196-7>
34. Urabe A., Imamura M., Tsuge M., Kan H., Fujino H., Fukuhara T., et al. The relationship between HBcAg and HBV reinfection in HBV related post-liver transplantation patients. *J. Gastroenterol.* 2017; 52(3): 366–75. <https://doi.org/10.1007/s00535-016-1240-y>
35. Rajput M.K. Mutations and methods of analysis of mutations in Hepatitis B virus. *AIMS Microbiol.* 2020; 6(4): 401–21. <https://doi.org/10.3934/microbiol.2020024>
36. Hamada-Tsutsumi S., Iio E., Watanabe T., Murakami S., Isogawa M., Iijima S., et al. Validation of cross-genotype neutralization by hepatitis B virus-specific monoclonal antibodies by in vitro and in vivo infection. *PLoS One.* 2015; 10(2): e0118062. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0118062>
37. World Health Organization (WHO). Hepatitis B vaccination coverage [Internet]. Available online: <https://immunizationdata.who.int/pages/coverage/hepb.html> access date: 23.06.23
38. Wilson P., Parr J.B., Jhaveri R., Meshnick S.R. Call to action: prevention of mother-to-child transmission of hepatitis B in Africa. *J. Infect. Dis.* 2018; 217(8): 1180–3. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiy028>
39. Bassoum O., Kimura M., Dia A.T., Lemoine M., Shimakawa Y. Coverage and timeliness of birth dose vaccination in sub-Saharan Africa: A systematic review and meta-analysis. *Vaccines.* 2020; 8(2): 301. <https://doi.org/10.3390/vaccines8020301>
40. Moturi E., Tevi-Benissan C., Hagan J., Shendale S., Mayenga D., Murokora D., et al. Implementing a birth dose of hepatitis B vaccine in Africa: Findings from assessments in 5 countries. *J. Immunol. Sci.* 2018; (Suppl. 5): 31–40. <https://doi.org/10.29245/2578-3009/2018/si.1104>
41. Salpini R., Colagrossi L., Bellocchi M.C., Surdo M., Becker C., Alteri C., et al. Hepatitis B surface antigen genetic elements critical for immune escape correlate with hepatitis B virus reactivation upon immunosuppression. *Hepatology.* 2015; 61(3): 823–33. <https://doi.org/10.1002/hep.27604>

REFERENCES

1. WHO. Hepatitis B. Key facts. Available at: <http://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/hepatitis-b>
2. WHO. Global progress report on HIV, viral hepatitis and sexually transmitted infections, 2021: Accountability for the global health sector strategies 2016–2021: Actions for impact. Web Annex 2: Data Methods. Available at: <https://www.who.int/publications/item/9789240027077>
3. GBD 2019 Hepatitis B Collaborators. Global, regional, and national burden of hepatitis B, 1990–2019: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019. *Lancet Gastroenterol. Hepatol.* 2022; 7(9): 796–829. [https://doi.org/10.1016/S2468-1253\(22\)00124-8](https://doi.org/10.1016/S2468-1253(22)00124-8)
4. Schweitzer A., Horn J., Mikolajczyk R.T., Krause G., Ott J.J. Estimations of worldwide prevalence of chronic hepatitis B virus infection: a systematic review of data published between 1965 and 2013. *Lancet.* 2015; 386(10003): 1546–55. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(15\)61412-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(15)61412-X)
5. Kao J.H. Hepatitis B vaccination and prevention of hepatocellular carcinoma. *Best Pract. Res. Clin. Gastroenterol.* 2015; 29(6): 907–17. <https://doi.org/10.1016/j.bpg.2015.09.011>
6. Yao N., Fu S., Wu Y., Tian Z., Feng Y., Li J., et al. Incidence of mother-to-child transmission of hepatitis b in relation to maternal peripartum antiviral prophylaxis: A systematic review and meta-analysis. *Acta Obstet. Gynecol. Scand.* 2022; 101(11): 1197–206. <https://doi.org/10.1111/aogs.14448>
7. Pan C.Q., Duan Z., Dai E., Zhang S., Han G., Wang Y., et al. Tenofovir to prevent hepatitis B transmission in mothers with high viral load. *N. Engl. J. Med.* 2016; 374(24): 2324–34. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1508660>
8. Terrault N.A., Lok A.S.F., McMahon B.J., Chang K.M., Hwang J.P., Jonas M.M., et al. Update on prevention, diagnosis, and treatment of chronic hepatitis B: aASLD 2018 hepatitis B guidance. *Hepatology.* 2018; 67(4): 1560–99. <https://doi.org/10.1002/hep.29800>
9. Nassal M. HBV cccDNA: viral persistence reservoir and key obstacle for a cure of chronic hepatitis B. *Gut.* 2015; 64(12): 1972–84. <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2015-309809>
10. Akinbodewa A.A., Gbadegesin B.A., Adejumo O.A., Ahmed S.D., Uwameiye O., Dada S.A., et al. A multicentre study of awareness and practice of vaccination against infectious diseases among haemodialysis subjects in Nigeria. *West Afr. J. Med.* 2019; 36(3): 239–45.
11. Kramvis A. Molecular characteristics and clinical relevance of African genotypes and subgenotypes of hepatitis B virus. *S. Afr. Med. J.* 2018; 108(8b): 17–21. <https://doi.org/10.7196/SAMJ.2018.v108i8b.13495>
12. Stasi C., Silvestri C., Voller F. Emerging trends in epidemiology of hepatitis B virus infection. *J. Clin. Transl. Hepatol.* 2017; 5(3): 272–6. <https://doi.org/10.14218/JCTH.2017.00010>
13. Mokaya J., McNaughton A.L., Hadley M.J., Beloukas A., Gerretti A.M., Geodhals D. A systematic review of hepatitis B virus (HBV) drug and vaccine escape mutations in Africa: A call for urgent action. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2018; 12(8): e0006629. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0006629>
14. Phan N.M.H., Faddy H.M., Flower R.L., Dimech W.J., Spann K.M., Roulis E.V. Low genetic diversity of hepatitis B virus surface gene amongst Australian blood donors. *Viruses.* 2021; 13(7): 1275. <https://doi.org/10.3390/v13071275>
15. Hossain M.G., Ueda K. Investigation of a novel hepatitis B virus surface antigen (HBsAg) escape mutant affecting immunogenicity. *PLoS One.* 2017; 12(1): e0167871. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0167871>
16. Ostankova Yu.V., Serikova E.N., Semenov A.V., Totolyan Areg A. Method for hepatitis B virus DNA detecting in biological material

- at low viral load based on nested PCR with detection on three viral targets in real-time mode. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika*. 2022; 67(9): 530–7. <https://doi.org/10.51620/0869-2084-2022-67-9-530-537> <https://elibrary.ru/qndbzzr> (in Russian)
17. Popova A.Yu., Kuttyreva V.V., Totolyan Areg A., eds. *Hepatitis B in West Africa: Epidemiology, Diagnosis, Prevention [Gepatit B v stranakh Zapadnoy Afriki: epidemiologiya, diagnostika, profilaktika]*. St. Petersburg; 2021. (in Russian)
 18. 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>
 19. Balde T.A.L., Bumbali 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. *Problemy osobo opasnykh infektsiy*. 2021; (1): 87–94. <https://doi.org/10.21055/0370-1069-2021-1-87-94> <https://elibrary.ru/upnyfx> (in Russian)
 20. Boubaly S., Serikova E.N., Balde T.A.L., Ostankova Yu.V., Schemelev A.N., Valutite D.E., et al. Amino acid substitutions in core and HBsAg regions of hepatitis B virus in patients with monoinfection and HBV/HIV-coinfection in the Republic of Guinea. *HIV Infection and Immunosuppressive Disorders*. 2021; 13(3): 122–33. <https://doi.org/10.22328/2077-9828-2021-13-3-122-133>
 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> <https://elibrary.ru/zybhjz> (in Russian)
 22. Ingasia L.A.O., Kostaki E.G., Paraskevis D., Kramvis A. Global and regional dispersal patterns of hepatitis B virus genotype E from and in Africa: A full-genome molecular analysis. *PLoS One*. 2020; 15(10): e0240375. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0240375>
 23. Shirvani-Dastgerdi E., Winer B.Y., Celià-Terrassa T., Kang Y., Taberner D., Yagmur E., et al. Selection of the highly replicative and partially multidrug resistant rtS78T HBV polymerase mutation during TDF-ETV combination therapy. *J. Hepatol.* 2017; 67(2): 246–54. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2017.03.027>
 24. Colagrossi L., Hermans L.E., Salpini R., Di Carlo D., Pas S.D., Alvarez M., et al. HEPVIR working group of the European Society for translational antiviral research (ESAR). 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>
 25. Sloan R.D., Ijaz S., Moore P.L., Harrison T.J., Teo C.G., Tedder R.S. Antiviral resistance mutations potentiate hepatitis B virus immune evasion through disruption of its surface antigen a determinant. *Antivir. Ther.* 2008; 13(3): 439–47.
 26. Wang M.L., Tang H. Nucleos(t)ide analogues causes HBV S gene mutations and carcinogenesis. *Hepatobiliary Pancreat. Dis. Int.* 2016; 15(6): 579–86. [https://doi.org/10.1016/s1499-3872\(16\)60064-4](https://doi.org/10.1016/s1499-3872(16)60064-4)
 27. Lai M.W., Liang K.H., Yeh C.T. Hepatitis B virus preS/S truncation mutant rtM204I/sW196* increases carcinogenesis through deregulated HIF1A, MGST2, and TGFβ1. *Int. J. Mol. Sci.* 2020; 21(17): 6366. <https://doi.org/10.3390/ijms21176366>
 28. Gencay M., Hübner K., Gohl P., Seffner A., Weizenegger M., Neofytos D., et al. Ultra-deep sequencing reveals high prevalence and broad structural diversity of hepatitis B surface antigen mutations in a global population. *PLoS One*. 2017; 12(5): e0172101. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0172101>
 29. Lazarevic I., Banko A., Miljanovic D., Cupic M. Immune-escape hepatitis B virus mutations associated with viral reactivation upon immunosuppression. *Viruses*. 2019; 11(9): 778. <https://doi.org/10.3390/v11090778>
 30. Adesina O.A., Akanbi O.A., Opaleye O.O., Japhet M.O., Wang B., Oluyeye A.O., et al. Detection of Q129H immune escape mutation in apparently healthy hepatitis B virus carriers in southwestern Nigeria. *Viruses*. 2021; 13(7): 1273. <https://doi.org/10.3390/v13071273>
 31. Faleye T.O., Adewumi O.M., Ifeora I.M., Akere A., Bakarey A.S., Omoruyi E.C., et al. Detection and circulation of hepatitis B virus immune escape mutants among asymptomatic community dwellers in Ibadan, southwestern Nigeria. *Int. J. Infect. Dis.* 2015; 39: 102–9. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2015.08.008>
 32. Powell E.A., Gededzha M.P., Rentz M., Rakgole N.J., Selabe S.G., Seleise T.A., et al. Mutations associated with occult hepatitis B in HIV-positive South Africans. *J. Med. Virol.* 2015; 87(3): 388–400. <https://doi.org/10.1002/jmv.24057>
 33. Olagbenro M., Anderson M., Gaseitsiwe S., Powell E.A., Gededzha M.P., Selabe S.G., et al. In silico analysis of mutations associated with occult hepatitis B virus (HBV) infection in South Africa. *Arch. Virol.* 2021; 166(11): 3075–84. <https://doi.org/10.1007/s00705-021-05196-7>
 34. Urabe A., Imamura M., Tsuge M., Kan H., Fujino H., Fukuhara T., et al. The relationship between HBcrAg and HBV reinfection in HBV related post-liver transplantation patients. *J. Gastroenterol.* 2017; 52(3): 366–75. <https://doi.org/10.1007/s00535-016-1240-y>
 35. Rajput M.K. Mutations and methods of analysis of mutations in Hepatitis B virus. *AIMS Microbiol.* 2020; 6(4): 401–21. <https://doi.org/10.3934/microbiol.2020024>
 36. Hamada-Tsutsumi S., Iio E., Watanabe T., Murakami S., Isogawa M., Iijima S., et al. Validation of cross-genotype neutralization by hepatitis B virus-specific monoclonal antibodies by in vitro and in vivo infection. *PLoS One*. 2015; 10(2): e0118062. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0118062>
 37. World Health Organization (WHO). Hepatitis B vaccination coverage [Internet]. Available online: <https://immunizationdata.who.int/pages/coverage/hepb.html> access date: 23.06.23
 38. Wilson P., Parr J.B., Jhaveri R., Meshnick S.R. Call to action: prevention of mother-to-child transmission of hepatitis B in Africa. *J. Infect. Dis.* 2018; 217(8): 1180–3. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiy028>
 39. Bassoum O., Kimura M., Dia A.T., Lemoine M., Shimakawa Y. Coverage and timeliness of birth dose vaccination in sub-Saharan Africa: A systematic review and meta-analysis. *Vaccines*. 2020; 8(2): 301. <https://doi.org/10.3390/vaccines8020301>
 40. Moturi E., Tevi-Benissan C., Hagan J., Shendale S., Mayenga D., Murokora D., et al. Implementing a birth dose of hepatitis B vaccine in Africa: Findings from assessments in 5 countries. *J. Immunol. Sci.* 2018; (Suppl. 5): 31–40. <https://doi.org/10.29245/2578-3009/2018/si.1104>
 41. Salpini R., Colagrossi L., Bellocchi M.C., Surdo M., Becker C., Alteri C., et al. Hepatitis B surface antigen genetic elements critical for immune escape correlate with hepatitis B virus reactivation upon immunosuppression. *Hepatology*. 2015; 61(3): 823–33. <https://doi.org/10.1002/hep.276>