

Семёнов А. В.^{1,2,3}, Останкова Ю. В.¹, Серикова Е.Н.¹, Зуева Е.Б.¹, Тотолян Арег А.^{1,2}

ОПТИМИЗАЦИЯ АЛГОРИТМА ДИАГНОСТИКИ МАРКЕРОВ ХРОНИЧЕСКОГО ГЕПАТИТА В У ПАЦИЕНТОВ С ВПЕРВЫЕ ВЫЯВЛЕННОЙ ВИЧ-ИНФЕКЦИЕЙ

¹ФБУН «Санкт-Петербургский НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 197191, Санкт-Петербург, Россия;

²ГБОУ ВПО «Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова» Минздрава РФ, 197022, Санкт-Петербург, Россия;

³ГБОУ ВПО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И. И. Мечникова» Минздрава РФ, 191015, Санкт-Петербург, Россия

Проанализирована возможность модификации алгоритмов лабораторной диагностики хронического вирусного гепатита В у лиц с впервые выявленной ВИЧ-инфекцией. Использованы образцы плазмы крови 196 пациентов, проживающих в Северо-Западном федеральном округе. Серологические маркеры ВГВ были обнаружены в 79,6% случаев. При этом HBsAg был выявлен у 5,6% пациентов. Антитела анти-HBcore IgG встречаются в 62,24% случаев, антитела анти-HBe IgG в 27,55%, антитела анти-HBs IgG в 52,55% случаев. При использовании коммерческого набора с чувствительностью 100 МЕ/мл ДНК ВГВ выявили у 4,6% пациентов, то есть у 81,8% HBsAg-позитивных лиц. При использовании разработанного нами метода ДНК ВГВ обнаружили у 18,36% ВИЧ-инфицированных лиц, в том числе 12,75% случаев составила HBsAg-негативная (скрытая) форма заболевания. В обследованной группе преобладал ВГВ генотипа D (91,7%), генотип A выявлен в 8,3% случаев. Распределение субгенотипов представлено в следующих соотношениях: D2 – 55,6%, D1 – 22,2%, D3 – 13,9%, A2 – 8,3%. Выявлены мутации в регионе обратной транскриптазы (RT) у 91,6% пациентов, в регионе SHB у 83,3%, в регионах Core и Precore у 72,2% и у 27,7% пациентов, соответственно. Выявлены три изолята (8,3%) ВГВ с мутациями лекарственной устойчивости к ламивудину, энтекавиру, телбивудину и тенофовиру, представляющие собой замены аминокислот в гене полимеразы ВГВ в положениях L180M, T184A, M204V. Мутации вакцинного ускользания выявили у 61,1% пациентов. Во всех образцах с мутациями лекарственной устойчивости одновременно присутствовали escape-мутанты. При анализе регионов промотора базального ядра, Precore и Core были выявлены 22,2% пациентов с двойной мутацией A1762T / G1764A, 25% с мутацией G1896A, у одного человека были обнаружены все три замены. В Core-регионе у 77,7% пациентов выявлены мутации в одной из горячих точек замещения кодонов 87, 97, 112 и 130, способных играть роль в иммуномодуляции при ХВГВ.

Анализ генетической структуры ВГВ, раннее выявление мутаций вируса у больных ХВГВ могут способствовать прогнозированию клинического течения и прогрессирования заболевания, осложнений при АРВТ. Для снижения бремени коинфекции ВИЧ + ВГВ и назначения анти-ВГВ терапии необходимо внедрение выявления скрытого ГВ для модификации алгоритма лабораторной диагностики ХВГВ.

Ключевые слова: хронический вирусный гепатит В; скрытый ВГВ; коинфекция ВИЧ + ВГВ; мутации лекарственной устойчивости; мутации вакцинного бегства; алгоритм диагностики.

Для цитирования: Семёнов А. В., Останкова Ю. В., Серикова Е.Н., Зуева Е. Б., Тотолян Арег А. Оптимизация алгоритма диагностики маркеров хронического гепатита В у пациентов с впервые выявленной ВИЧ-инфекцией. Клиническая лабораторная диагностика. 2020; 65 (9): 574-579. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2020-65-9-574-579>

Semenov A. V.^{1,2,3}, Ostankova Yu. V.¹, Serikova E.N.¹, Zueva E.B.¹, Totolian Areg A.^{1,2}

OPTIMIZATION OF THE ALGORITHM DIAGNOSIS CHRONIC HEPATITIS B MARKERS IN PATIENTS WITH NEWLY DIAGNOSED HIV INFECTION

¹Saint-Petersburg Pasteur Institute, 197191, Saint Petersburg, Russia;

²Saint-Petersburg State Medical University n.a. acad. I. P. Pavlov, 197022, Saint Petersburg, Russia;

³North-West State Medical University n.a. I. I. Mechnikov, 191015, Saint Petersburg, Russia

The possibility of modifying the algorithms for chronic viral hepatitis B laboratory diagnosis in individuals with newly diagnosed HIV infection is analyzed. Plasma samples were used from 196 patients residing in the Northwestern Federal District. Serological HBV markers were found in 79.6% of cases. However, HBsAg was detected in 5.6% of patients. Anti-HBcore IgG antibodies are found in 62.24% of cases, anti-HBe IgG antibodies in 27.55%, anti-HBs IgG antibodies in 52.55% of cases. Using a commercial kit with a 100 IU / ml sensitivity, HBV DNA was detected in 4.6% of patients, that is, 81.8% of HBsAg-positive individuals. Using the method developed by us, HBV DNA was found in 18.36% of HIV-infected individuals, including 12.75% of cases was HBsAg-negative (latent) disease form. In the examined group, HBV of genotype D prevailed (91.7%), genotype A was detected in 8.3% of cases. The distribution of subgenotypes is presented in the following ratios: D2 – 55.6%, D1 – 22.2%, D3 – 13.9%, A2 – 8.3%. Mutations were detected in the reverse transcriptase (RT) region in 91.6% of patients, in the SHB region in 83.3%, in the Core and Precore regions in 72.2% and in 27.7% of patients, respectively. Three HBV isolates (8.3%) were identified with drug resistance mutations to lamivudine, entecavir, telbivudine and tenofovir, which are amino acid substitutions in the HBV polymerase gene at positions L180M, T184A, M204V. Vaccine escape mutations were detected in 61.1% of patients. In all samples with drug resistance mutations, escape-mutants were simultaneously present. When analyzing the basal nucleus promoter, Precore and Core regions, 22.2% of patients with the double mutation A1762T / G1764A, 25% with the mutation G1896A were identified. In one person, all three substitutions were found. In the Core region, 77.7% of patients showed mutations in one of the hot spots (codons 87, 97, 112, and 130 substitution), which can play a role in immunomodulation in CHB.

Analysis of the HBV genetic structure, mutations detection early in the virus in patients with HBV can help predict the clinical course and disease progression, and ART complications. To reduce the HIV HBV co-infection burden and to appointer anti-HBV therapy, it is necessary to introduce detection the occult HBV to modify the algorithm for CHB laboratory diagnosis.

Key words: *chronic hepatitis B; occult HBV, coinfection HIV + HBV; drug resistance mutations; vaccine escape mutations; diagnostic algorithm.*

For citation: *Semenov A. V., Ostankova Yu. V., Serikova E.N., Zueva E.B., Totolian Areg A. Optimization of the algorithm diagnosis chronic hepatitis B markers in patients with newly diagnosed HIV infection. Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics). 2020; 65 (9): 574-579 (in Russ.). DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2020-65-9-574-579>*

For correspondence: *Ostankova Yu.V., PhD senior researcher at the Laboratory of Molecular Immunology; e-mail: shenna1@yandex.ru*

Information about authors:

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>

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

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

Conflict of interests. *The authors declare absence of conflict of interests.*

Acknowledgment. *The study had no sponsor support.*

Received 26.05.2020
Accepted 11.06.2020

Введение. По состоянию на 2018 год в мире насчитывалось 37,9 млн человек, живущих с вирусом иммунодефицита человека (ВИЧ) [1]. Несмотря на широкое применение различных схем антиретровирусной терапии (АРВТ) заболевания печени, в том числе вызванные вирусными гепатитами В и С, оказались второй по значимости причиной смертности среди ВИЧ-инфицированных пациентов [2]. Общность путей, механизмов инфицирования и факторов передачи ВИЧ и ВГВ предопределяет высокую частоту встречаемости коинфекции этих вирусов в группах риска [3]. Риск коинфекции ВИЧ и ВГВ зависит от возраста пациента на момент первичного инфицирования. Несмотря на высокую частоту спонтанного клиренса ВГВ (> 90%) у взрослых людей без признаков иммунокомпрометированности, ХВГВ развивается в среднем у 5-20% ВИЧ-инфицированных лиц после заражения ВГВ [4]. Различия в распространенности коинфекции связаны с изменчивостью распространенности ВГВ в разных географических регионах [5]. Так, в регионах с высокой распространенностью ВГВ коинфекция может выявляться у 25%, а среди ВИЧ-инфицированных потребителей инъекционных наркотиков 50% обследованных [6]. Взаимная интерференция вирусов может привести к ухудшению функциональных показателей печени и к низкой выживаемости пациентов. Работы, посвященные коинфекции ВГВ + ВИЧ показали влияние ВИЧ-инфекции на течение ГВ, приводящее к ускорению естественного развития хронического вирусного гепатита В (ХВГВ), увеличению частоты выявления резистентных форм ВИЧ, потере защитных анти-НВs IgG антител, повышению риска прогрессирования фиброза, раннему развитию цирроза, гепатоцеллюлярной карциномы (ГЦК), гепатотоксических эффектов, связанных с антиретровирусными препаратами, увеличению риска летального исхода от заболевания печени [7]. В свою очередь, по некоторым данным ВГВ индуцирует транскрипцию ВИЧ с помощью белка X посредством стимуляции связывания транскрипционных регуляторных белков С / EBPβ, CREB1 и CREB2 с длинным терминальным повтором ВИЧ [8]. Отмечают выраженное снижение абсолютного числа CD4+ Т-хелперов и замедленное восстановление их содержания, а также менее эффективный вирусоло-

гический ответ в ходе АРВТ у пациентов с коинфекцией по сравнению с пациентами моноинфицированными ВИЧ [9]. ВОЗ рекомендует как можно раньше вакцинировать ВИЧ-положительных людей с помощью вакцины против ВГВ, при этом показано, что двойная доза вакцины может значительно улучшить иммунный ответ у ВИЧ-инфицированных пациентов [10]. Однако данные о распространенности коинфекции не могут считаться полностью достоверными, поскольку основаны на выявлении НВsAg у ВИЧ-инфицированных лиц, в то время как одна из форм течения ХВГВ, скрытый или оккультный гепатит В (окГВ), характеризуется недетектируемым уровнем НВsAg в плазме крови при наличии ДНК ВГВ в ткани печени и крайней низким уровнем вирусной нагрузки в крови вплоть до неопределяемого [11]. Противоречивость данных о распространенности окГВ среди ВИЧ-инфицированных лиц связана, по всей видимости, с различными диагностическими алгоритмами, использующимися для обнаружения скрытого ВГВ. Так, например, окГВ не был выявлен среди ВИЧ-инфицированных лиц в Чили, в то время как в Канаде встречаемость коинфекции составила 42%, а в Мексике 49% [12].

Благодаря наличию эффективной противовирусной терапии с упрощенным алгоритмом лечения, действующей как против ВИЧ, так и против ВГВ, лечение пациентов с коинфекцией стало более доступным. АРВТ приводит к снижению продуцирования НВsAg и способно противодействовать НВsAg-управляемому ингибированию иммунного ответа, но не прерывает полностью репликацию ВГВ. В то время как терапия направлена на снижение вирусной нагрузки ВГВ, показано, что у ВИЧ-позитивных пациентов с серологическими маркерами реконвалесценции отсутствие НВsAg часто может быть связано с развитием НВsAg-негативной формы заболевания. Скрытый ГВ ассоциирован с прогрессированием фиброза печени, развитием цирроза и ГЦК, а также возможной реактивацией ВГВ при тяжелой иммуносупрессии. Кроме того, показано, что у АРВТ-наивных ВИЧ-инфицированных пациентов коинфекция ВГВ без антител НВsAg IgG тесно связана с более высокой смертностью. При этом для коинфекции ВИЧ с окГВ, как и при НВsAg-позитивном ХВГВ, также показана

более высокая по сравнению с моноинфекцией ВИЧ частота гепатотоксических эффектов, связанных с АРВП, сниженное количество CD4-позитивных лимфоцитов, и более быстрый переход ВИЧ-инфекции в стадию СПИД [13]. Таким образом, субоптимальный ответ на терапию, неполное подавление вируса, неблагоприятные последствия длительного противовирусного лечения и потенциальная гепатотоксичность АРВП остаются серьезными проблемами.

Тем не менее, имеющиеся данные показывают, что ранняя диагностика коинфекции вместе с быстрым началом адекватной АРВП необходимы для замедления повреждения печени, фиброза и прогрессирования к терминальной стадии заболевания печени в контексте увеличения числа CD4+ и постоянного подавления вирусной активности ВИЧ и ВГВ. Но вызывает сомнения достаточность применяемых в настоящее время алгоритмов выявления маркеров ВГВ для ранней диагностики коинфекции ВИЧ + ВГВ.

Цель работы – оценить возможность модификации алгоритма лабораторной диагностики хронического вирусного гепатита В у лиц с впервые выявленной инфекцией ВИЧ.

Материал и методы. Исследование одобрено локальным комитетом по этике ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера (Санкт-Петербург). В работе использована плазма крови 196 пациентов, проживающих на территории СЗФО, с впервые выявленным ВИЧ.

Образцы исследовали на наличие HBsAg, антител анти-HBcore IgG, анти-HBs IgG, анти-HBe IgG, ДНК ВГВ.

Экстракцию ДНК проводили с помощью комплекта реагентов для выделения РНК/ДНК из клинического материала «РИБО-преп» (ФБУН ЦНИИЭ, Москва), согласно инструкции. Для первичного выявления ВГВ анализ присутствия вируса проводили методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с гибридационно-флуоресцентной детекцией в режиме «реального времени» с помощью коммерческого набора «АмплиСенс® HBV-FL» (ФБУН ЦНИИЭ, Москва). В дальнейшем использовали разработанную во ФБУН «Санкт-Петербургский НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера» методику, позволяющую выявлять ВГВ в биологическом материале при низкой вирусной нагрузке. Для получения полногеномной нуклеотидной последовательности вируса гепатита В проводили асимметричную ПЦР с использованием протяженных олигонуклеотидов, на втором этапе проводили ПЦР с использованием продукта амплификации первой реакции и одной из пар внутренних (гнездовых) перекрывающихся праймеров, совместно фланкирующих полный геном ВГВ, как было показано ранее [14, 15]. Секвенирующую реакцию проводили согласно инструкции к набору реагентов ABI PRISM BigDye Terminator v3.1. (Applied Biosystems, США), продуктов секвенирующих реакций анализировали с использованием генетического анализатора ABI Prism 3500 (Applied Biosystems, США).

Первичный анализ полученных в ходе секвенирования фрагментов осуществляли с помощью программы NCBI Blast в сравнении с нуклеотидными последовательностями, представленными в международной базе данных GenBank. Выравнивание нуклеотидных последовательностей проведено в программе MEGA 7.0, используя алгоритм ClustalW [16]. Для построения

филогенетических деревьев и последующего филогенетического анализа рассматривали расстояние между последовательностями методом присоединения соседей, позволяющим оптимизацию дерева в соответствии с критерием «сбалансированной минимальной эволюции» (Neighbor-joining). Для оценки достоверности построенных деревьев проведён бутстреп (bootstrap) для 1000 повторов.

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

Результаты и обсуждение. Возраст пациентов в группе варьировал от 18 до 65 лет и составил в среднем $36,5 \pm 14,7$ лет. Количество мужчин преобладало по сравнению с женщинами – 63,3% и 36,7%, соответственно, статистически достоверных отличий не выявлено.

Серологические маркеры ВГВ были обнаружены у 79,6% пациентов с впервые выявленной ВИЧ-инфекцией. При этом HBsAg был выявлен у 5,6% пациентов, что соответствует данным о встречаемости коинфекции ВГВ+ВИЧ в Северо-Западном федеральном округе [17]. При оценке распространенности других серологических маркеров было показано, что антитела анти-HBcore IgG встречаются в 62,24% случаев, антитела анти-HBe IgG – в 27,55%, антитела анти-HBs IgG – в 52,55% случаев.

При использовании коммерческого набора «АмплиСенс® HBV-FL» (ФБУН ЦНИИЭ, Москва) с чувствительностью 100 МЕ/мл ДНК ВГВ выявили у 4,6% пациентов, то есть у 81,8% HBsAg-позитивных лиц. Среди HBsAg-негативных больных ДНК ВГВ выявить не удалось. При использовании разработанного нами метода ДНК ВГВ была выявлена у всех HBsAg-позитивных пациентов и у 13,5% HBsAg-негативных лиц, что составило 12,75% от общей группы. Таким образом, ДНК ВГВ обнаружили у 18,36% ВИЧ-инфицированных лиц. Разработанный нами метод повышает аналитическую чувствительность диагностического алгоритма, направленного на выявление маркеров ХВГВ. Интересно отметить, что, хотя общая распространенность ДНК ВГВ в нашей работе сходна с распространенностью ВГВ у АРВП-наивных ВИЧ-инфицированных пациентов в Японии, где составляет 20,4%, встречаемость HBsAg-позитивного ХВГВ ниже, а HBsAg-негативного ХВГВ выше среди обследованных пациентов из СЗФО, и составляют 14,3% и 6,1%, соответственно [13]. В то же время встречаемость оКГВ среди АРВП-наивных ВИЧ-инфицированных лиц в Италии составила 19,8% [18]. Эти различия могут зависеть как от методологических отличий исследований, так и от большей или меньшей встречаемости ВИЧ и ВГВ в разных географических регионах.

Для всех пациентов была проведена оценка количества CD4+ лимфоцитов. Мы не выявили достоверных различий при сравнительном анализе количества CD4+ клеток между ВИЧ-инфицированными пациен-

разцы, исследованные в настоящей работе. Даны значения bootstrap $\geq 60\%$.

Нуклеотидная последовательность ВГВ при скрытой форме течения заболевания, как правило, не отличается от нуклеотидной последовательности вируса так называемого «дикого типа» при HBsAg-позитивной форме. В обследуемой нами группе среди образцов ВГВ естественные полиморфные варианты в различных регионах генома вируса показаны для всех образцов. Мутации, предположительно способные играть клиническую роль за счет изменения аминокислотной последовательности белка, были выявлены в регионе обратной транскриптазы у 91,6% пациентов, в регионе SHB у 83,3%, при этом мутации одновременно в регионах RT и SHB выявлены у 80,5% пациентов. Мутации в регионах Core и Precore обнаружены у 72,2% и у 27,7% пациентов, соответственно.

При анализе мутаций в регионе обратной транскриптазы были выявлены три HBsAg-негативных изолята (8,3%) ВГВ с мутациями лекарственной устойчивости к ламивудину, энтекавиру, телбивудину и тенофовиру, представляющие собой замены аминокислот в гене полимеразы ВГВ в положениях L180M, T184A, M204V. Эти же мутации в той или иной степени были обнаружены в разных регионах мира у АРВТ-наивных пациентов с коинфекцией ВИЧ + ВГВ [21, 22]. Широкое использование ламивудина в терапии ХВГВ способствовало распространению по всему миру устойчивых к данному препарату и перекрестно устойчивых к таким препаратам как телбивудин и энтекавир генотипов вируса [22]. Поскольку ламивудин и его аналоги также используются как составная часть АРВТ ВИЧ, можно ожидать высокую частоту встречаемости фармакорезистентных вариантов ВГВ у ВИЧ-инфицированных лиц. В связи с этим особый интерес представляет выявление таких мутантов ВГВ среди АРВТ-наивных и/или первично выявленных пациентов с ВИЧ. Передача таких штаммов среди коинфицированных ВИЧ и ВГВ лиц, не получавших лечения, может привести к серьезным последствиям. Эпидемиологически и клинически значимым является выявление мутаций вакцинного ускользания, способных возникать за счет факторов хозяина без отбора, вызванного вакцинацией или терапией, у 61,1% обследованных лиц, в том числе 38,9% и 22,2% у HBsAg-негативных и позитивных пациентов, соответственно. Например, мутации в «а» детерминантной области ВГВ, часто обнаруживаемые при оГВВ, заметно ухудшают выявление HBsAg при серологическом обследовании. Наиболее распространены в обследуемой группе были мутации P127T/L (47,2%) и A128V (30,5%), обе мутации одновременно присутствовали у 25% пациентов. Во всех образцах с мутациями лекарственной устойчивости одновременно присутствовали эскаре-мутанты. Так, замены D144E, G145R были выявлены в образце с мутациями фармакорезистентности L180M, M204V, замены A128V и P127T в образце с тремя мутациями устойчивости L180M, T184A, M204V, и в образце с одной мутацией устойчивости M204V присутствовала мутация P127T. Возможно, с наличием эскаре-мутантов связаны случаи выявления оГВВ у ранее вакцинированных против ВГВ пациентов [23].

При анализе регионов промотора базального ядра, Precore и Core были выявлены 22,2% пациентов с

двойной мутацией A1762T / G1764A, 25% – с мутацией G1896A, в одном случае были обнаружены все три замены, связанные в первом случае со снижением транскрипции мРНК Precore и снижением продукции HBeAg, а во втором – с появлением стоп-кодона в позиции W28 и неспособностью синтезировать е-антиген вируса гепатита В. Данные мутации, как известно, ассоциированы с повышенным риском развития цирроза печени и ГЦК, представляя собой прогностические маркеры течения заболевания печени [24]. Высокая встречаемость двойной мутации A1762T/G1764A (13,6%) и мутации G1896A (22%) в данном регионе ВГВ была показана при обследовании АРВТ-наивных ВИЧ-инфицированных пациентов с коинфекцией ВГВ в Индии [25]. Мутация G29D, также ассоциированная с развитием цирроза и ГЦК, обнаружена у 5,5% больных. В Core-регионе у 77,7% пациентов были выявлены мутации в одной из горячих точек замещения кодонов 87, 97, 112 и 130, способных играть роль в иммуномодуляции при ХВГВ [26].

Нуклеотидные последовательности полных геномов ВГВ с мутациями в нескольких регионах депонированы в международную базу данных GeneBank под номерами MT437385-MT437390.

Заключение. Высокий уровень распространённости скрытого ХВГВ среди ВИЧ-инфицированных лиц с впервые выявленной инфекцией ВИЧ, а также выявление мутаций лекарственной устойчивости, эскаре-мутантов и мутаций, ассоциированных с прогрессированием заболевания печени, развитием фиброза, цирроза и ГЦК, свидетельствует о недостаточности выявления ВГВ применяемыми в настоящее время методами, основанными на определении HBsAg. Анализ генетической структуры ВГВ, раннее выявление мутаций вируса у больных ХВГВ могут способствовать прогнозированию клинического течения и прогрессирования заболевания, осложнений при АРВТ. Для снижения бремени коинфекции ВИЧ + ВГВ и назначения анти-ВГВ терапии необходимо внедрение выявления скрытого ВГВ в диагностические алгоритмы лабораторной диагностики ХВГВ.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА (пп. 1-13, 16, 18, 21-26
см. REFERENCES)

14. Останкова Ю. В., Семёнов А. В., Тотолян Арег А. Выявление вируса гепатита В в плазме крови при низкой вирусной нагрузке. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2019; 64 (10): 635-40.
15. Останкова Ю. В., Семенов А. В., Тотолян Арег А. Способ выявления в биологическом материале ДНК вируса гепатита В при низкой вирусной нагрузке на основе двухэтапной ПЦР. Патент РФ № 2633755; 2017.
17. Максимов С.Л., Царенко С.П., Кравченко А.В., Ганкина Н.Ю., Ющук Н.Д. Маркёры хронического гепатита В у больных ВИЧ-инфекцией и подходы к терапии. *Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии*. 2010; 20(5): 22-6.
19. Останкова Ю.В., Семенов А.В., Зуева Е.Б., Тотолян Арег А. Распространенность окултального гепатита В среди HBsAg-негативных лиц с ВИЧ в Великом Новгороде. *ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии*. 2019;11(1):64-70.
20. Останкова Ю. В., Семенов А. В., Зуева Е.Б., Тотолян Арег А. Выявление и молекулярно-генетическая характеристика вируса гепатита В среди ВИЧ-инфицированных пациентов в Архангельске. *Вопросы вирусологии*. 2019; 64(3): 105-11.

REFERENCES

1. Global HIV & AIDS Statistics—2020 Fact Sheet; 2020. <<https://www.unaids.org/en/resources/fact-sheet>>. Accessed 05.05.2020.
2. Weber R., Sabin C.A., Friis-Moller N., Reiss P., El-Sadr W.M., Kirk O. et al. Liver-related deaths in persons infected with the human immunodeficiency virus: The D:A:D study. *Arch. Intern. Med.* 2006; 166: 1632–41.
3. Li Y., Wang H., Li T. Hepatitis B virus/human immunodeficiency virus coinfection: interaction among human immunodeficiency virus infection, chronic hepatitis B virus infection, and host immunity. *Chin Med. J.* 2012; 125(13): 2371–7.
4. World Health Organization (WHO) HIV and hepatitis co-infections; 2020. <<http://www.who.int/hiv/topics/hepatitis/hepatitisinfo/en/>>. Accessed 05.05.2020.
5. Ganesan M., Poluektova L.Y., Kharbanda K.K., Osna N.A. Human immunodeficiency virus and hepatotropic viruses co-morbidities as the inducers of liver injury progression. *World J. Gastroenterol.* 2019; 25: 398–410.
6. Thio C.L. Hepatitis B and human immunodeficiency virus coinfection. *Hepatology.* 2009; 49(5 Suppl): S138-45.
7. Ramirez-Mena A., Glass T.R., Winter A., Kimera N., Ntamatungiro A., Hatz C. et al. Prevalence and Outcomes of Hepatitis B Coinfection and Associated Liver Disease Among Antiretroviral Therapy-Naive Individuals in a Rural Tanzanian Human Immunodeficiency Virus Cohort. *Open Forum Infect. Dis.* 2016; 3(3):ofw162.
8. Mu Y., Yu Y., Yue X., Musarat I., Gong R., Zhu C. et al. The X protein of HBV induces HIV-1 long terminal repeat transcription by enhancing the binding of C/EBP β and CREB1/2 regulatory proteins to the long terminal repeat of HIV-1. *Virus Res.* 2011; 156(1-2): 81-90.
9. Sun H.-Y. Hepatitis B virus coinfection in human immunodeficiency virus-infected patients: A review. *World J. Gastroenterol.* 2014; 20:14598.
10. Lee J.H., Hong S., Im J.H., Lee J.S., Baek J.H., Kwon H.Y. Systematic review and meta-analysis of immune response of double dose of hepatitis B vaccination in HIV-infected patients. *Vaccine.* 2020; 38(24): 3995-4000.
11. Raimondo G., Allain J. P., Brunetto M. R., Buendia M. A., Chen D. S., Colombo M. et al. Statements from the Taormina expert meeting on occult hepatitis B virus infection. *J. Hepatol.* 2008; 49: 652–7.
12. Coffin C.S., Mulrooney-Cousins P.M., Osiowy C., van der Meer F., Nishikawa S., Michalak T.I. et al. Virological characteristics of occult hepatitis B virus in a North American cohort of human immunodeficiency virus type 1-positive patients on dual active anti-HBV/HIV therapy. *J. Clin. Virol.* 2014; 60: 347-53.
13. Mitsumoto-Kaseida F., Murata M., Takayama K., Toyoda K., Oga-wa E., Furusyo N., Hayashi J. Prevalence and characteristics of occult hepatitis B virus infection in Japanese human immunodeficiency virus-infected patients. *J. Infect. Chemother.* 2020; 26(1): 28-32.
14. Ostankova Yu.V., Semenov A.V., Totolian Areg A. Hepatitis B virus identification in a blood plasma at a low viral load. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika.* 2019; 64 (10): 635-40. (in Russian)
15. Ostankova Yu.V., Semenov A.V., Totolyan Areg A. Method for detecting hepatitis B virus DNA in biological material at low viral load based on two-stage PCR. Patent RF № 2633755; 2017. (in Russian)
16. Kumar S., Stecher G., Tamura K. MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 7.0 for bigger datasets. *Molec. Biology and Evolution.* 2016; 33(7): 1870-4.
17. Maksimov S.L., Tsarenko S.P., Kravchenko A.V., Gankina N.Yu., Yushchuk N.D. Markers of chronic hepatitis B in patients with HIV infection and approaches to therapy. *Rossiyskiy zhurnal gastroenterologii, gepatologii, koloproktologii.* 2010; 20 (5): 22-6. (in Russian)
18. Filippini P., Coppola N., Pisapia R., Scolastico C., Marrocco C., Zaccariello A. et al. Impact of occult hepatitis B virus infection in HIV patients naive for antiretroviral therapy. *AIDS.* 2006; 20: 1253-60.
19. Ostankova Yu.V., Semenov A.V., Zueva E.B., Totolyan A.A. The prevalence of occult hepatitis B among HBsAg-negative people with HIV in Velikiy Novgorod. *VICH-infektsiya i immunosupressii.* 2019; 11 (1): 64-70. (in Russian)
20. Ostankova Yu. V., Semenov A.V., Zueva E.B., Totolyan Areg A. Detection and molecular genetic characteristics of the hepatitis B virus among HIV-infected patients in Arkhangelsk. *Voprosy virusologii.* 2019; 64 (3): 105-11. (in Russian)
21. Akanbi O.A., Harms D., Wang B., Osundare F.A., Adesina O., Oluremi A.S. et al. High frequency of drug resistance mutations in the HBV genome in ART-experienced HIV-coinfected patients in southwestern Nigeria. *Antivir. Ther.* 2019; 24(7): 521-8.
22. Tuma P., Pineda J.A., Labarga P., Vidal F., Rodriguez C., Poveda E. et al. CoRIS Study Group. HBV primary drug resistance in newly diagnosed HIV-HBV-coinfected individuals in Spain. *Antivir. Ther.* 2011; 16(4):585-9.
23. Aghakhani A., Mohraz M., Aghasadeghi M.R., Banifazl M., Vahab-pour R., Karami A., Foroughi M., Ramezani A. Occult hepatitis B virus infection and S gene escape mutants in HIV-infected patients after hepatitis B virus vaccination. *Int. J. STD AIDS* 2016; 27: 967–72.
24. Chen B.F., Liu C.J., Jow G.M., Chen P.J., Kao J.H., Chen D.S. High prevalence and mapping of pre-S deletion in hepatitis B virus carriers with progressive liver diseases. *Gastroenterology.* 2006; 130(4): 1153-68.
25. Saha D., Pal A., Biswas A., Panigrahi R., Sarkar N., Das D. et al. Molecular characterization of HBV strains circulating among the treatment-naive HIV/HBV co-infected patients of eastern India. *PLoS One.* 2014; 9(2): e90432.
26. Kim H.J., Lee D.H., Gwak G.Y., Choi M.S., Lee J.H., Koh K.C., Paik S.W., Yoo B.C. Analysis of the core gene of hepatitis B virus in Korean patients. *Liver Int.* 2007; 27(5): 633-8.

Поступила 26.05.20

Принята к печати 11.06.20