

## Серологический и молекулярно-биологический анализ результатов вакцинации против гепатита В медицинского персонала многопрофильного стационара

Т. А. Семенов<sup>1</sup>, Г. Ю. Никитина<sup>2</sup>, Л. В. Ярош<sup>1</sup>, А. И. Баженов<sup>3</sup>, Д. А. Эльгорт<sup>1</sup>,  
Д. А. Клейменов<sup>3</sup>, В. Б. Таничева<sup>2</sup>, М. А. Годков<sup>3</sup>, А. П. Суслов<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБУ «НИИЭМ им. Н. Ф. Гамалеи» Минздрава России, Москва, Россия

<sup>2</sup>Городская клиническая больница им. С. П. Боткина, Москва, Россия

<sup>3</sup>НИИ скорой помощи им. Н. В. Склифосовского, Москва, Россия

Представлены результаты изучения напряженности и длительности иммунного ответа у 890 сотрудников многопрофильного стационара после вакцинации против гепатита В. Установлено существенное повышение удельного веса лиц с наличием HBsAg (1,7%), anti-HBc (21,1%), anti-HBe (16,9%) среди невакцинированных лиц по сравнению с привитыми сотрудниками (0,2, 10,7 и 6,4% соответственно). «Изолированные» anti-HBc выявлены у 5 (0,8%) вакцинированных и 15 (6,3%) невакцинированных человек, ДНК ВГВ — у 3 (0,5%) и 5 (2,1%) соответственно. Среди 653 вакцинированных лиц у 140 (21,4%) отсутствовали anti-HBs или их

концентрация была ниже протективного уровня. Изоляты, положительные по ДНК ВГВ в ПЦР, при секвенировании имели генотип D, субтипы ayw3 и ayw2. При анализе аминокислотных последовательностей в участке S-гена установлены замены T118A, T118V, M125T и A128V. Обсуждается вопрос о необходимости создания вакцин нового поколения, способных защищать как от «диких» штаммов, так и от мутантных форм ВГВ.

**Ключевые слова:** вирус гепатита В, медицинский персонал, вакцинация против гепатита В, поствакцинальный иммунитет, мутантные формы ВГВ.

### Serological and Molecular Analysis of the Results of Medical Staff Vaccination Against Hepatitis B

T. A. Semenenko<sup>1</sup>, G. Ju. Nikitina<sup>2</sup>, L. V. Yarosh<sup>1</sup>, A. I. Bazhenov<sup>3</sup>, D. A. Elgort<sup>1</sup>, D. A. Kleimenov<sup>3</sup>,  
V. B. Tanicheva<sup>2</sup>, M. A. Godkov<sup>3</sup>, A. P. Suslov<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Research Institute of Epidemiology and Microbiology named after N. F. Gamaleya, Moscow, Russia

<sup>2</sup> City Clinical Hospital named after S. P. Botkin, Moscow, Russia

<sup>3</sup> Research Institute of Emergency Care named after N. V. Sklifosovskiy, Moscow, Russia

The results of the immune response intensity and duration in 890 hospital staff after vaccination against hepatitis B are presented. High frequency of HBsAg (1,7%), anti-HBs (21,1%), anti-HBe (16,9%) among not vaccinated against hepatitis B medical staff in comparison with vaccinated persons (0,2, 10,7 and 6,4% respectively) was established. «Isolated» anti-HBc was estimated to occur at 5 (0,8%) vaccinated and 15 (6,3%) not vaccinated persons, HBV DNA — at 3 (0,5%) and 5 (2,1%),

respectively. Among 653 vaccinated medical staff anti-HBs were absent or their concentration was below protective level at 140 (21,4%) persons. HBV DNA positive in PCR isolates had genotype D, subtypes ayw3 and ayw2. Sequence analysis of PCR products amplified from the S region revealed site replacements T118A, T118V, M125T, A128V. The necessity of the new generation vaccines formation capable to protect from HBV «wild» strains and mutant forms is discussed.

**Key words:** hepatitis B virus, medical staff, vaccination against hepatitis B, vaccine-induced immunity, HB-mutants.

Контактный адрес:

Татьяна Анатольевна Семенов

Эл. почта: semenenko@gamaleya.org

## Введение

*Hepatitis B* (ГВ) представляет собой важнейшую медико-социальную проблему. Это обусловлено высоким уровнем заболеваемости среди различных групп населения, многообразием клинических форм и исходов, включая цирроз и первичный рак печени, и значительным социально-экономическим ущербом. В мире насчитывается более 2 млрд человек, имеющих маркеры инфицирования *вирусом гепатита В* (ВГВ), из них 350 млн являются хроническими носителями вируса. В России насчитывается от 3 до 5 млн бессимптомных носителей ВГВ, многие из которых страдают хроническим ГВ.

Показатель заболеваемости острым ГВ в 2013 году составил 1,33 на 100 тыс. населения, что является рекордно низким значением за все годы наблюдения. Вакцинация, признанная основным средством профилактики ГВ, бесспорно внесла значительный вклад в этот процесс. В России применение вакцин против ГВ в группах риска началось в 1990 году, и в стране появились реальные предпосылки эффективного воздействия на активность эпидемического процесса ГВ [1]. В декабре 1997 года Приказом Минздрава России № 375 вакцинация против ГВ была включена в Национальный календарь профилактических прививок, что в дальнейшем было закреплено в Федеральном законе «Об иммунопрофилактике инфекционных болезней». Наиболее ощутимые результаты были достигнуты при реализации приоритетного национального проекта «Здоровье», когда за период 2006–2011 гг. было провакцинировано более 67% подростков и взрослых в возрасте 18–55 лет [2].

Мониторинг эффективности вакцинации осуществляется преимущественно путем определения гуморального иммунного ответа, характеризующегося частотой выявления специфических антител (анти-НВs) в протективных титрах [3]. Особую актуальность данный критерий приобретает в группах риска, к которым относится персонал лечебно-профилактических учреждений. Увеличение числа парентеральных вмешательств и процедур с использованием сложной аппаратуры; широкое использование антибиотиков и цитостатиков, оказывающих иммуносупрессивное действие; рост объема и видов медицинских услуг, оказываемых населению амбулаторно-поликлиническим звеном и кабинетами частной врачебной практики, — все эти факторы повышают риск заражения вирусами гепатитов в процессе выполнения должностных обязанностей [4]. В настоящее время гепатит В можно с полным основанием считать профессиональным заболеванием медицинских работников.

Активная иммунизация медицинского персонала в России начата в 1996–1997 гг., и к настоящему времени накоплен значительный опыт ее реализации. Однако, несмотря на эффективность вакцинопрофилактики, недостаточно изучена длительность и напряженность специфического гуморального иммунитета, а также распространенность маркеров инфицирования ВГВ среди привитых и неиммунизированных медицинских работников. В связи с этим целью работы явилось проведение серологического и молекулярно-биологического анализа результатов вакцинации против гепатита В у медицинского персонала многопрофильного стационара.

## Материал и методы

Проведено исследование сывороток крови у 890 сотрудников многопрофильного стационара, в том числе у 228 врачей, 536 медицинских сестер и у 126 младшего медицинского персонала.

Среди обследованных лиц 699 (78,5%) составили женщины, 191 (21,5%) — мужчины, средний возраст —  $40,4 \pm 8,6$  года.

Для иммунизации использовали вакцину против ГВ, содержащую 20 мкг НВsAg (1,0 мл), по стандартной схеме (0–1–6 мес.). У всех обследованных лиц исследовали образцы сыворотки крови на наличие НВsAg, анти-НВс (суммарные) и анти-НВе. Тестирование анти-НВs проводили с определением их концентрации и среднегеометрических титров. Результаты интерпретировали в мМЕ/мл. Серопротективной концентрацией специфических антител в сыворотке крови считали титры анти-НВs, равные 10 мМЕ/мл и выше. Образцы сыворотки крови, позитивные по НВsAg и с «изолированными» антителами к НВсAg, исследовали на наличие ДНК ВГВ методом ПЦР в реальном времени.

Для исследования применяли отечественные и зарубежные коммерческие тест-системы. НВsAg определяли в ИФА тест-системе «Гепастрип В» (НПО «Ниармедик») с последующим подтверждением позитивных образцов в тест-системе «Гепаблок» (НПО «Ниармедик»). Тестирование сывороток крови на наличие серологических маркеров ВГВ (анти-НВs, анти-НВс, анти-НВе) проводили с использованием коммерческих тест-систем ЗАО «Вектор-Бест», «Architect» («Abbott Diagnostics», США) согласно прилагаемым инструкциям. Вирусную нагрузку определяли методом количественной ПЦР с детекцией продуктов в реальном времени с помощью тест-системы «РеалБест ДНК-ВГВ» (ЗАО «Вектор-Бест», Россия) на приборе CFX-96 (Bio-Rad, США). Определение нуклеотидных последовательностей участка S-гена проводили с использованием секвенатора «FDI-3100 PRISM

Таблица 1. Распределение вакцинированных и невакцинированных против гепатита В медицинских работников по возрасту

Возраст, лет	Вакцинированные против ГВ		Невакцинированные против ГВ	
	абс. число	%	абс. число	%
20–29	181	27,7	19	8,0
30–39	203	31,1	57	24,1
40–49	156	23,9	65	27,4
50–59	64	9,8	57	24,1
60 и более	49	7,5	39	16,4
Всего	653	100,0	237	100,0

Genetic Analyzer» («Applied Biosystems», США). Для анализа и обработки полученных результатов использовали общепринятые методы вариационной статистики.

### Результаты исследования и обсуждение

Из включенных в обследование 890 медицинских работников специфическую профилактику против ГВ получили 653 человека (1-я группа), из них полный курс вакцинации проведен у 609 (93,2%), одну или две дозы препарата получили 44 человека (6,8%). Среди привитых сотрудников — 520 женщин (79,6%) и 133 мужчин (20,4%). Анализ распределения вакцинированных лиц по профессиональному признаку показал, что из них 162 (24,8%) — врачи, 418 (64,0%) — средний и 73 (11,2%) — младший медицинский персонал. 237 сотрудников стационара (2-я группа), из которых 179 (75,5%) — женщины и 58 (24,5%) — мужчины, не были привиты, в том числе 73 (30,8%) — врачи, 114 (48,1%) — средний и 50 (21,1%) — младший медицинский персонал. Распределение по возрасту вакцинированных и невакцинированных против ГВ медицинских работников представлено в табл. 1.

Как следует из данных табл. 1, наиболее часто вакцинируются сотрудники в возрасте от 20 до 39 лет (27,7 и 31,1%), а самый низкий процент привитых — в возрастных категориях 50–59 лет и 60 и более лет (9,8 и 7,5% соответственно). Это может быть связано с наличием медицинских противопоказаний и наличием сопутствующей соматической патологии у лиц зрелого возраста, а также с отказом от вакцинации в силу недостаточной информированности об опасности заражения ВГВ.

При сравнительном анализе частоты выявления маркеров инфицирования ВГВ в обследуемых группах установлено существенное превышение удельного веса лиц с наличием HBsAg (1,7% против 0,2%;  $p < 0,001$ ), анти-HBc в сочетании с анти-HBc (20,3% против 10,7%;  $p < 0,002$ ) среди невакцинированных

лиц по сравнению с привитыми сотрудниками. Обнаружение анти-HBc у привитых медицинских работников может свидетельствовать о предыдущей встрече с ВГВ без клинических признаков заболевания, однако этот вопрос является предметом дальнейших исследований. «Изолированные» анти-HBc выявлены у 5 (0,8%) вакцинированных и 15 (6,3%) невакцинированных человек (табл. 2).

Также в 6,4 и 16,9% случаев определены антитела к HBeAg у лиц с наличием и отсутствием прививочного анамнеза. При проведении ПЦР в реальном времени у 3 из 653 вакцинированных (0,5%) и у 5 из 237 невакцинированных сотрудников (2,1%) была обнаружена ДНК ВГВ.

Обнаружение «изолированных» суммарных антител к HBsAg, а также ДНК ВГВ при отсутствии HBsAg у 3 сотрудников (у двух вакцинированных и у одного невакцинированного) свидетельствует о наличии «скрытых» форм ГВ. О регистрации скрытой ВГВ-инфекции среди медицинского персонала сообщают как отечественные, так и зарубежные авторы [5–7]. Выявление ДНК ВГВ у вакцинированных против ГВ сотрудников может быть следствием разных причин: наличия феномена отсутствия ответа на вакцинацию у здоровых лиц; инфицирования мутантными формами ВГВ; физиологическим (за счет инволюции тимуса) возрастным иммунодефицитом сотрудников (все старше 50 лет), сопровождающимся нарушением адекватного реагирования на вакцинацию [3].

Анализ данных о поствакцинальных концентрациях антител показал, что у 23,0% привитых отмечаются низкие (от 10 до 99 мМЕ/мл), у 16,7% — средние (100–1000 мМЕ/мл) и у 38,9% — высокие (более 1000 мМЕ/мл) титры антител. Следует отметить, что среди 653 вакцинированных лиц у 140 (21,4%) отсутствовали антитела к HBsAg или их концентрация была ниже протективного уровня (менее 10 мМЕ/мл).

Одновременное обнаружение анти-HBc+анти-HBc установлено среди 70 (10,7%) иммунизированных

Таблица 2. Сравнительная частота выявления маркеров инфицирования ВГВ у сотрудников многопрофильного стационара, вакцинированных и невакцинированных против ГВ

Маркеры	Вакцинированные (n=653)		Невакцинированные (n=237)	
	абс. число	%	абс. число	%
HBsAg	1	0,2	4	1,7
Анти-HBs	443	67,8	11	4,6
Анти-HBs + анти-HBc	70	10,7	48	20,3
Анти-HBc «изолированные»	5	0,8	15	6,3
Нет серологических маркеров	134	20,5	159	67,1
Всего	653	100,0	237	100,0

Таблица 3. Частота наличия разных концентраций анти-HBs в разные сроки после вакцинации против ГВ

Сроки после вакцинации	Число обследованных	Распределение вакцинированных лиц в зависимости от концентрации анти-HBs, абс. число (%)			
		<10 (отр.) мМЕ/мл	10–99 мМЕ/мл	100–1000 мМЕ/мл	>1000 мМЕ/мл
1–5 лет	533	98 (18,4)	110 (20,6)	88 (16,5)	237 (44,5)
6–7 лет	60	13 (21,7)	20 (33,3)	14 (23,3)	13 (21,7)
8–15 лет	60	29 (48,3)	20 (33,3)	7 (11,7)	4 (6,7)
Итого	653	140 (21,4)	150 (23,0)	109 (16,7)	254 (38,9)

ванных серопозитивных сотрудников, что свидетельствует о перенесенном в прошлом гепатите В в бессимптомной форме. Следует отметить, что число лиц с наличием суммарных антител к HBsAg возрастает с увеличением титров анти-HBs (1,7, 2,3 и 6,7% соответственно).

Результаты исследования сывороток крови на напряженность и длительность иммунитета к ВГВ среди медицинского персонала многопрофильного стационара в разные сроки после вакцинации представлены в табл. 3.

При анализе данных, представленных в табл. 3, прослеживается изменение уровня специфического гуморального иммунного ответа у вакцинированных лиц в зависимости от времени, прошедшего после окончания курса вакцинации. Так, если спустя 1–5 лет после последней прививки лиц с высокими титрами по анти-HBs (100–1000 и >1000) было 16,5 и 44,5%, то через 8–15 лет – 11,7 и 6,7% соответственно от числа вакцинированных. На ранних сроках преобладают сотрудники с титрами анти-HBs >1000 мМЕ/мл (44,5%), а спустя 8–15 лет у большей части привитых доминирующей является концентрация специфических антител <10 мМЕ/мл и 10–99 мМЕ/мл (48,3 и 33,3% соответственно).

В связи с высокой медико-социальной значимостью гепатита В в настоящее время разрабатываются различные подходы к повышению эффективности вакцинации путём применения различных адъювантов, включая иммуномодуляторы, оптимизации схем, создания новых вакцинных пре-

паратов и др. Следует отметить, что определение гуморального иммунного ответа в ИФА лишь косвенно отражает напряженность антиген-специфического Т-клеточного ответа, который играет важную роль в защите от вирусных инфекций. Длительный протективный эффект обусловлен формированием иммунологической памяти, которая связана с накоплением клона долгоживущих (20 лет и более) клеток памяти [3].

При оценке зависимости уровня поствакцинальных антител от возраста установлено, что наибольший удельный вес серопозитивных лиц имеет место в возрастных группах 20–29 (86,7%) и 30–39 (81,3%) лет, минимальный – 62,5 и 63,3% среди медицинских работников – в возрасте 50–59 и 60 и более лет, соответственно. Определение удельного веса различных концентраций анти-HBs показало, что у лиц в возрасте 20–29 и 30–39 лет антитела в титре >1000 мМЕ/мл обнаруживаются в 44,8 и 43,8% случаев, а у сотрудников старше 60 лет – лишь в 26,5% случаев. Такая же закономерность прослеживается для анти-HBs в более низких концентрациях: у лиц пожилого возраста специфические защитные антитела встречаются реже, чем у молодых.

Таким образом, у ряда лиц проведение вакцинации не приводит к формированию протективного гуморального иммунитета или он быстро снижается. Вопрос об ограничении профессиональных обязанностей медицинских работников, у которых не произошла сероконверсия (т. е. титры антител не превышают 10 мМЕ/мл), является чрезвычайно сложным

Таблица 4. Генетическая характеристика изолятов ВГВ у вакцинированных лиц

№ образца сыворотки	Генотип	Субгенотип	Субтип	Вариабельность S-гена
223	D	2	ayw3	T118A, M125T
743	D	2	ayw3	T118V, A128V, M125T
923	D	2	ayw3	T118A
959	D	2	ayw2	M125T
357	D	2	ayw2	Нет замен

и его детальное обсуждение с учетом юридических, профессиональных и этических аспектов выходит за рамки данной статьи. На сегодняшний день ВОЗ рекомендует решать этот вопрос индивидуально в каждом конкретном случае, но без профессиональной дискриминации медицинских работников.

Для оценки генетической вариабельности S-гена и поиска мутаций «ускользания» у вакцинированных лиц были отобраны 5 из 8 образцов сывороток крови, положительных по ДНК ВГВ в ПЦР и проведено секвенирование части S-гена, кодирующей главный гидрофильный регион HBsAg изолятов ВГВ (табл. 4). В остальных трех позитивных сыворотках не удалось выделить ДНК ВГВ в количестве, достаточном для секвенирования, из-за низкой вирусной нагрузки.

Согласно полученным данным, изоляты ВГВ, выделенные из сывороток крови медперсонала, имеют генотип D, субгенотип D2 и характерные для генотипа D субтипы ayw3 и ayw2. При исследовании образцов установлено отсутствие в них основной мутации, вызывающей появление «эскейп» мутантов ВГВ — аминокислотной замены G145R. Анализ аминокислотных последовательностей в участке S-гена позволил установить замену в 118 положении у трех сотрудников с субтипом ayw3, причем в изолятах № 223 и № 923 — T118A, в изоляте № 743 — T118V в сочетании с другими заменами (A128V, M125T) на фоне HBsAg-негативного профиля. Замена M125T отмечена в трех изолятах как самостоятельно, так и в сочетании с другими заменами.

В одном образце сыворотки крови, положительном по ДНК ВГВ, мутантный вариант HBsAg выявить не удалось. Подобный набор аминокислотных замен описан G. Kumag и соавт. (2009) при обследовании пациентов со скрытыми формами ГВ [8].

Проведенный корреляционный анализ не позволил установить зависимость частоты выявления маркеров инфицирования ВГВ от вариабельности S-гена. В то же время обращает на себя внимание тот факт, что во всех 4 изолятах с аминокислотными заменами концентрация ДНК ВГВ была низкой и не превышала  $10^3$  копий/мл, при этом в 2 случаях вирусная нагрузка была  $10^2$  копий/мл (табл. 5).

Существование мутантов ВГВ, ускользящих от протективного действия иммунной системы на фоне проведенной вакцинации, впервые было зарегистрировано в Италии, впоследствии появились и другие аналогичные сообщения [9]. Наиболее важная и хорошо изученная мутация представляет собой замену аминокислотного остатка глицина в положении 145 на аргинин (G145R), вызванную точечной мутацией (замена G на A) в позиции 587 нуклеотидной последовательности [10]. В наше время проблема мутантов ВГВ стала еще более актуальной, так как массовая вакцинация против ГВ, реализуемая во многих странах мира в рамках национальных программ, и широкое применение химиотерапии способствуют преимущественной селекции и распространению мутантных форм ВГВ, которые не только «ускользают» из-под

Таблица 5. Частота выявления маркеров инфицирования вирусом гепатита В в зависимости от вариабельности S-гена

№	Мутации	HBsAg	Анти- HBs	Анти- HBc	Анти- HBc-IgM	HBе Ag	Анти-НВе	Анти- ВГС	ДНК ВГВ	Генотип	Субтип
923	T118A	+	+	+	+	–	+	–	$10^2$	D	ayw3
357	Нет замен	+	+	+	–	–	+	–	$10^4$	D	ayw2
223	T118A M125T	+	–	+	–	–	+	+	$10^2$	D	ayw3
743	T118V M125T A128V	–	25	+	+	–	+	–	$10^3$	D	ayw3
959	M125T	+	–	+	–	–	+	–	$10^3$	D	ayw2

протективного действия поствакцинального иммунитета, но и не выявляются тестами, основанными на иммунодетекции HBsAg [11, 12].

Данные по изучению эффективности гуморального иммунитета у лиц, вакцинированных против ГВ, позволили сделать вывод о недостаточном профилактическом потенциале ряда препаратов. Во-первых, ранее полагали, что наличие общей «консервативной» а-детерминанты HBsAg в вакцинах вызывает универсальный иммунный ответ против всех известных субтипов ВГВ. Впоследствии было показано, что субтипы ауw, adr, adw отличаются по основным позициям аминокислотной последовательности в положениях иммуноактивной а-детерминанты, что реализуется в различном связывании HBsAg с гетерологичными антителами. По мнению R. A. Heijtkink и соавт. (2002), рекомбинантная вакцина против субтипа adw ГВ обеспечивает хорошую, но не оптимальную защиту против гетерологичных штаммов вируса, поскольку изменения в а-детерминанте, связанные с субтипами, могут влиять на связывание вакцинных антител при инфицировании гетерологичными по

субтипу штаммами [13]. В России доминирующим является субтип ауw (от 75 до 95% в разных регионах), что коррелирует с полученными нами данными. Следовательно, вакцинацию следует проводить против ВГВ субтипа ауw, поскольку в противном случае снижается порог инфицирования и увеличивается количество случаев заболевания ГВ среди вакцинированного населения. При исследовании различных рекомбинантных вакцин, присутствующих на отечественном рынке, установлено, что на данный момент только компания ЗАО НПК «Комбиотех» производит вакцину против ГВ субтипа ауw, превалирующего на территории России [14]. Во-вторых, данные о растущей распространенности мутантов, «ускользающих» от вакцинации, ставят на повестку дня вопрос о необходимости создания вакцин нового поколения, способных защищать как от «диких» штаммов, так и от мутантных форм ВГВ. Внедрение в практику здравоохранения подобной поливакцины позволит ограничить появление и распространение мутантов ВГВ и, следовательно, приведет к снижению заболеваемости гепатитом В.

## Литература

1. Шахгильдян И. В., Михайлов М. И., Онищенко Г. Г. Парентеральные вирусные гепатиты. ГОУ ВУНМЦ МЗ РФ. М., 2003. 383 с.
2. О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2011 году: Государственный доклад. М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2012. 316 с.
3. Семенов Т. А. Иммунный ответ при вакцинации против гепатита В у лиц с иммунодефицитными состояниями. Эпидемиология и вакцинопрофилактика, 2011; 1:51-9.
4. Акимкин В. Г., Семенов Т. А., Никитина Г. Ю., Годков М. А., Скворцов С. В. Эпидемиология гепатитов В и С в лечебно-профилактических учреждениях. ООО «Издательский дом «Бионика». М., 2013. 216 с.
5. Семенов Т. А., Ярош Л. В., Баженов А. И., Никитина Г. Ю., Клейменов Д. А., Эльгорт Д. А. и соавт. Эпидемиологическая оценка распространенности «скрытых» форм и HBsAg-мутантов вируса гепатита В у гематологических больных. Эпидемиология и вакцинопрофилактика 2012; (6):9-14.
6. Ганина А. А. Скрытая ВГВ-инфекция среди доноров крови и лиц, относящихся к группам риска инфицирования. Автореф. дисс. канд. биол. наук: 03.00.06—Москва. - 2009. - 24 с.
7. Pinato D. J., Rossi D., Minh M. T., et al. Hepatitis B virus and lymphomagenesis: novel insights into an occult relationship. Dig Liver Dis 2012; 44(3):235-8.
8. Kumar G. T., Kazim S. N., Kumar M., et al. Hepatitis B virus genotypes and hepatitis B surface antigen mutations in family contacts of hepatitis B virus infected patients with occult hepatitis B virus infection. J Gastroenterol Hepatol 2009; 24(4):588-98.
9. Alavian S. M., Carman W. F., Jazayeri S. M. HBsAg variants: Diagnostic-escape and diagnostic dilemma. J Clin Virol 2013; 57(3):201-8.
10. Wu C., Deng W., Deng L., et al. Amino acid substitutions at positions 122 and 145 of hepatitis B virus surface antigen (HBsAg) determine the antigenicity and immunogenicity of HBsAg and influence *in vivo* HBsAg clearance. J Virol 2012; 86(8):4658-69.
11. Weber B. Diagnostic impact of the genetic variability of the hepatitis B virus surface antigen gene. J Med Virol 2006; 78(Suppl 1):59-65.
12. Баженов А. И. Совершенствование методов иммунодетекции HBsAg-мутантов вируса гепатита В. Автореф. дисс. канд. мед. наук: 14.00.36 - Москва. - 2009. - 24 с.
13. Heijtkink R. A., Bergen P. V., Melber K., Janowicz Z. A., Osterhaus A. D. Hepatitis B surface antigen (HBsAg) derived from yeast cells (*Hansenula polymorpha*) used to establish an influence of antigenic subtype (adw2, adr, ауw3) in measuring the immune response after vaccination. Vaccine 2002; 20(17-18):2191-6.
14. Крымский М. А., Крымский Р. М., Буданов М. В., Борисова В. Н. Соответствие вакцин против гепатита В типу вируса, превалирующего на территории Российской Федерации. Биофармацевтический журнал 2010; 2(5):8-15.