

Алгоритм отбора образцов для гено- и субтиповирования вируса гепатита В с помощью панели моноклональных антител в иммуноферментном анализе

Л. В. Безуглова¹, А. А. Потапова², И. Г. Нетесова¹

¹АО «Вектор-Бест», Новосибирская область, р.п. Кольцово

²ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Минздрава России, Москва

РЕЗЮМЕ

Введение. Ранее была описана отечественная методика определения генотипов вируса гепатита В (ВГВ) и субтипов поверхностного антигена ВГВ (HBsAg) в HBsAg-положительных образцах сыворотки крови с панелью моноклональных антител (МАТ) методом иммуноферментного анализа (ИФА). В рутинной лабораторной практике результаты выявления HBsAg получают в единицах оптической плотности (ОП).

Цель работы. Описать алгоритм отбора образцов для иммуноферментного гено- и субтиповирования ВГВ с панелью МАТ.

Материалы и методы. В работе исследовали 40 образцов сыворотки крови с положительными результатами определения HBsAg. Генотипы ВГВ и субтипы HBsAg устанавливали с помощью четырех различных коньюгатов МАТ с пероксидазой хрена по методике ИФА, описанной ранее.

Результаты и обсуждение. В образцах с ОП менее 2,0 о.е. и подтверждением наличия HBsAg после единственного подтверждающего исследования ($n = 19$) генотипы ВГВ / субтипы HBsAg не установлены. В образцах с ОП выше 2,0 о.е. и верификацией наличия антигена при стандартном режиме регистрации ($n = 15$) иммуноферментное гено- и субтиповирование ВГВ оказалось эффективным в 27% случаев (4/15);

для образцов с верификацией HBsAg, проведенной при вспомогательном измерении ($n = 6$), эффективность методики составила 100%. С помощью панели МАТ в ИФА изучены характеристики ВГВ 10 образцов с наличием HBsAg: генотип D ВГВ ($n = 10$), субтипы ayw2 ($n = 7$), ayw3 ($n = 3$).

Выводы. Для наиболее эффективного применения методики гено- и субтиповирования ВГВ с помощью панели МАТ в ИФА следует использовать образцы HBsAg+ с ОП более 2,0 о.е. в скрининге и верификацией наличия антигена при вспомогательном режиме регистрации результатов.

Ключевые слова: оптическая плотность, поверхностный антиген вируса гепатита В, вирус гепатита В, субтип, генотип, моноклональные антитела, иммуноферментный анализ.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Sampling algorithm for geno- and subtyping of hepatitis B virus using panel of monoclonal antibodies in enzyme immunoassay

L. V. Bezuglova¹, A. A. Potapova², I. G. Netesova¹

¹Vector-Best Co., Koltsovo, Novosibirsk Region, Russia

²Russian National Research Medical University n.a. N.I. Pirogov, Moscow, Russia

SUMMARY

Introduction. Previously, a domestic method for determining hepatitis B virus (HBV) genotypes and HBV surface antigen (HBsAg) subtypes in HBsAg-positive blood serum samples with a Monoclonal Antibody Panel (MAB) by enzyme immunoassay (ELISA) was described. In routine laboratory practice, HBsAg detection results are obtained in units of optical density (OD).

Purpose. To describe the sampling algorithm for ELISA geno- and subtyping of HBV with the MAB Panel.

Materials and methods. We studied 40 blood serum samples with positive results of HBsAg determination. HBV genotypes and HBsAg subtypes were determined using four different MAB conjugates with horseradish peroxidase using the ELISA method described previously.

Results. In samples with OD less than 2.0 o.u. and confirmation of HBsAg after a single confirmatory study ($n = 19$) HBV genotypes/ HBsAg subtypes not established. In samples with an OD above 2.0 o.u. and verification of the presence of the antigen in the standard mode of registration ($n = 15$), immunoenzymatic geno- and subtyping of HBV was effective in 27% of cases (4/15); for samples with HBsAg verification carried out in an auxiliary measurement ($n = 6$) the effectiveness of the technique was 100%. Using the MAB panel in ELISA, the characteristics of HBV in 10 samples with the presence of HBsAg were studied: HBV genotype D ($n = 10$), subtypes ayw2 ($n = 7$), ayw3 ($n = 3$).

Conclusions. For the most effective application of the HBV geno- and subtyping technique using the MAB Panel in ELISA, HBsAg+ samples with OD signals of more than 2.0 o.u. in screening and verification of the presence of an antigen in the auxiliary mode of registration of results should be used.

KEYWORDS: optical density, hepatitis B virus surface antigen, hepatitis B virus, subtype, genotype, monoclonal antibodies, enzyme-linked immunosorbent assay.

CONFLICT OF INTEREST. The authors declare no conflict of interest.

Введение

Актуальность установления генотипа вируса гепатита В (ВГВ) и субтипа поверхностного белка ВГВ (HBsAg) определяется рядом индивидуальных факторов (прогноз тяжести течения заболевания, исхода терапии и др.). На основании филогенетического анализа ВГВ подразделяют на десять генотипов, распространенных в различных географических регионах мира и отличающихся друг от друга по составу нуклеотидных последовательностей более чем на 8% [1–3].

Различия в аминокислотной последовательности HBsAg позволяют разделить все изоляты вируса на девять антигенных субтипов: ayw1, ayw2, ayw3, ayw4, ayr, adw2, adw4, adrq+, adrq- [4, 5]. «Золотым стандартом» генотипирования ВГВ является прямое секвенирование нуклеотидной последовательности полного генома вируса [6] с последующим филогенетическим анализом. Недавно была описана отечественная методика определения субтипа HBsAg и ассоциированного

с ним генотипа ВГВ в образцах сыворотки крови пациентов с наличием HBsAg с помощью панели МАТ методом ИФА [7, 8]. Условием серодиагностики с использованием данного теста является концентрация HBsAg в сыворотке крови более 100 МЕ/мл. В рутинной лабораторной практике, как правило, определяют оптическую плотность (ОП) пробы в оптических единицах (о.е.); количественный тест для определения концентрации антигена не имеет широкого применения. Образцы с положительными результатами скрининга этого маркера ГВ подлежат дополнительному исследованию в подтверждающих тестах, основанных на конкурентном ИФА с использованием реакции нейтрализации специфическими антителами к HBsAg [9]. Для определения границ применимости метода иммуноферментного генотипирования важным является его апробирование на биологическом материале массового скрининга, который характеризуется чрезвычайным разнообразием (по группам пациентов, ОП образцов в ИФА и другим параметрам).

Цель данной работы: описать алгоритм отбора образцов для иммуноферментного гено- и субтиповирования ВГВ с помощью панели МАТ в ИФА.

Материалы и методы

В работе исследовали 40 образцов сыворотки крови пациентов различных лечебно-профилактических организаций Москвы (кроме наркологических диспансеров) с положительными результатами определения HBsAg, полученными при проведении ИФА с использованием набора реагентов «Вектогеп В-HBs-антigen-авто» (АО «Вектор-Бест», Россия). Наличие этого серологического маркера ГВ в исследуемых пробах верифицировали с помощью набора «Вектогеп В-HBs-антigen-подтверждающий тест» (АО «Вектор-Бест», Россия), в котором параллельно проводятся прямой и конкурентный ИФА. Согласно инструкции по применению этого теста при стандартном режиме регистрации данных анализа образец считали положительным, если значение ОП в конкурентном анализе за счет используемых в нем нейтрализующих антител к HBsAg снижено не менее чем на 50% по сравнению с ОП, полученной в прямом ИФА.

Определение субтипов HBsAg и ассоциированных с ними генотипов ВГВ проводили с помощью четырех различных коньюгатов МАТ с пероксидазой хрена по методике ИФА, описанной ранее [7]. Некоторые пробы не разводили отрицательным контрольным образцом (ОКО), поскольку

в алгоритме иммуноферментного суб- и генотипирования ВГВ представлена возможность исследования неразведенных образцов сыворотки крови. Сравнение частот определения субтипов HBsAg и генотипов ВГВ в разных группах проведено по критерию хи-квадрат Пирсона.

Внутрилабораторный контроль (ВЛК) качества проводили с использованием образца ВЛК-HBsAg (АО «Вектор-Бест», Россия). Для построения контрольной карты использован показатель коэффициента позитивности (КП), который вычисляли как отношение ОП контрольного материала ВЛК-HBsAg к критическому значению ОП.

Результаты и обсуждение

Внутрилабораторный контроль качества

В период исследования контрольные карты ВЛК-HBsAg характеризовались средним значением КП ВЛК-HBsAg, равным 3,33; средним квадратичным отклонением 0,326; коэффициентом вариации (CV) 10,2%, что приемлемо для ИФА [10] и свидетельствует о достоверности полученных результатов.

Результаты подтверждающего исследования на HBsAg

При исследовании образцов с использованием набора реагентов «Вектогеп В-HBs-антigen-подтверждающий тест» и регистрации результатов в стандартном режиме наличие HBsAg было верифицировано в 19 образцах сыворотки крови пациентов (группы 1, 2) со значениями ОП менее 2 о.е., полученными в прямом ИФА, и подавлением сигнала ОП более 50% в конкурентном ИФА. При анализе 21 пробы с более высоким уровнем ОП в прямом ИФА подтверждающего теста наличие данного маркера ГВ было подтверждено при стандартном режиме регистрации в 15 случаях (группа 3), а для шести образцов сыворотки (группа 4) верификация была успешно проведена по результатам вспомогательного измерения ОП до внесения стоп-реагента согласно инструкции к данному набору. При расчете соотношения значений ОП проб, полученных в прямом (П) и в конкурентном (К) ИФА, величина П/К составила более 2,0, что интерпретируется как наличие HBsAg (табл. 1).

Генотипы ВГВ/ субтипы HBsAg

В пробах групп 1 ($n = 13$) и 2 ($n = 6$), исследованных при иммуноферментном генотипировании без разведения, генотип ВГВ / субтипы HBsAg не удалось установить.

В связи с тем, что в методике иммуноферментного гено- и субтиповирования ВГВ указана возможность иссле-

Таблица 1

Результаты верификации наличия HBsAg в 40 образцах сыворотки крови пациентов

№ группы	Скрининг	Подтверждающий тест			
		ИФА прямой		ИФА конкурентный, ОП _{средн.} о.е. (95% ДИ)	Подавление ¹ сигнала, %, средн. (95% ДИ)
		ОП _{средн.} о.е. (95% ДИ)	Критерий	ОП _{средн.} о.е. (95% ДИ)	
1. ($n = 13$)	0,562 (от 0,375 до 0,749)	Менее 0,6 о.е.	0,260 (от 0,188 до 0,332)	0,068 (0,061–0,075)	100,5% (от 95,0 до 105,9)
2. ($n = 6$)	1,400 (от 0,839 до 1,960)	От 0,6 до 2,0 о.е.	1,437 (от 0,958 до 1,917)	0,073 (от 0,060 до 0,085)	98,8% (от 96,6 до 101,0)
3. ($n = 15$)	2,726 (от 2,271 до 3,181)	Более 2,0 о.е.	3,538 (от 3,330 до 3,746)	0,316 (от 0,120 до 0,512)	92,0% (от 86,3 до 97,6)
4. ($n = 6$)	3,333 (от 2,676 до 3,991)	Более 2,0 о.е. Вспомогательное измерение ²	1,137 ² (от 0,950 до 1,325)	0,298 ² (от 0,188 до 0,407)	ПО = 4,8 ^{2,3} (от 2,4 до 7,3)

Примечание: ¹ – % подавления = $\frac{(\text{ОПпрям} - \text{ОПконк})}{(\text{ОПпрям} - \text{ОПпрям} - \text{ОПконк})} \times 100\%$ согласно инструкции изготовителя; ² – до внесения стоп-реагента; ³ – позитивность образца (ПО) = $\frac{\text{ОПпрям}(П)}{\text{ОПконк}(К)}$ согласно инструкции изготовителя.

Таблица 2
Результаты иммуноферментного генотипирования ВГВ/ субтипования HBsAg образцов группы 3

№	Вектоген В-HBs-антитело-подтверждающий тест			Методика субтипования HBsAg / генотипирования ВГВ [7], результаты представлены в ОП							
	ОП _{прям.}	ОП _{конк.}	Процент подавления	SM		E1		H2		D4	
				ОП _{крит.} = 0,105	ОП _{крит.} = 0,105	ОП _{крит.} = 0,101	ОП _{крит.} = 0,101	ОП _{крит.} = 0,108	ОП _{крит.} = 0,108	Субтип HBsAg	Генотип ВГВ
<i>N = 11, в методике [7] исследованы без разведения</i>											
1	3,660	0,096	100,00	—	—	—	—	—	—	—	—
2	3,580	0,043	80,40	—	—	—	—	—	—	—	—
3	3,680	0,797	80,44	—	—	—	—	—	—	—	—
4	2,290	0,047	102,30	—	—	—	—	—	—	—	—
5	3,890	0,466	90,20	0,282	0,330	0,492	0,022	ayw2	D		
6	2,890	0,064	101,30	—	—	—	—	—	—	—	—
7	3,670	0,117	99,40	—	—	—	—	—	—	—	—
8	3,650	0,065	94,30	—	—	—	—	—	—	—	—
9	3,830	0,079	99,70	0,137	0,177	0,302	0,079	ayw2	D		
10	3,630	0,410	90,40	0,260	0,433	0,979	0,139	ayw2	D		
11	3,680	0,920	76,40	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>N = 4, в методике [7] исследованы в разведении в 10 раз</i>											
12	3,630	0,220	97,10	—	—	—	—	—	—	—	—
13	3,690	0,079	100,50	—	—	—	—	—	—	—	—
14	3,550	1,280	65,80	0,254	0,314	0,342	0,018	ayw2	D		
15	3,750	0,057	101,10	—	—	—	—	—	—	—	—

дования образцов без разведения, большая часть образцов с ОП более 2,0 о.е. по результатам прямого ИФА – подтверждающего теста, была исследована без разведения, а часть – с разведением в отрицательном контрольном образце, предусмотренном методикой. В пробах группы 3 получены результаты, представленные в табл. 2.

Из данных, представленных в таблице 2, следует, что только в 3 (27,3 %) из 11 проб, исследованных при иммуноферментном гено- и субтиповании без разведения, количество HBsAg было достаточным для определения генотипа вируса гепатита В и субтипа HBsAg. Во всех пробах определены генотип D ВГВ и субтипы HBsAg ayw2. Только в одной (25 %) пробе из четырех, разведенных в 10 раз согласно методике [7], определен генотип ВГВ D и субтипы HBsAg ayw2 (табл. 2).

В пробах группы 4 получены результаты, представленные в таблице 3.

Во всех пробах группы 4, исследованных без разведения ($n = 5$), определены генотип D ВГВ и субтипы поверхностного антигена: ayw3 (2 образца), ayw2 (3 образца). Частоты определения субтипов HBsAg / генотипов ВГВ в образцах групп 3 (27 %, или 3/11) и 4 (100 %, или 5/5), исследованных в методике с МАТ [7] по единому протоколу (без разведения), но имеющие характерные отличия

при верификации наличия антигена (стандартный режим регистрации или вспомогательное измерение до стоп-реагента), достоверно различаются ($p = 0,008$).

Кроме того, установлен генотип ВГВ и субтипы HBsAg в разведенной в 10 раз пробе с наличием антигена, подтвержденным при вспомогательном измерении (без стоп-реагента). В данной пробе результаты реакций с коньюгатами МАТ соответствовали генотипу D ВГВ, субтипу HBsAg ayw3.

Таким образом, в группе образцов с ОП выше 2,0 о.е., наличие HBsAg в которых было подтверждено при стандартном режиме регистрации ОП, генотипы ВГВ / субтипы HBsAg были установлены в 25 % (1/4) – 27 % (4/11) случаев при исследовании неразведенных ($n = 11$) или разведенных ($n = 4$) образцов. При этом иммуноферментное гено- и субтиповирование ВГВ было результативным для всех образцов (6/6), в которых наличие антигена было верифицировано с помощью вспомогательного измерения, независимо от того, были они исследованы в методике [7] в разведении ($n = 5$) или без ($n = 1$). Следовательно, для наиболее эффективного гено- и субтиповирования ВГВ с помощью панели МАТ следует отбирать образцы с ОП более 2,0 о.е., в которых наличие антигена верифицировано с помощью вспомогательного измерения.

Таблица 3
Результаты иммуноферментного генотипирования ВГВ/ субтипования HBsAg образцов группы 4

№	Вектоген В-HBs-антитело-подтверждающий тест			Методика субтипования HBsAg / генотипирования ВГВ [7], результаты представлены в ОП							
	Результаты вспомогательного измерения ¹			Методика субтипования HBsAg / генотипирования ВГВ [7], результаты представлены в ОП							
	ОП _{прям.} ¹	ОП _{конк.} ¹	ПО ^{1,2}	ОП _{крит.} = 0,105	ОП _{крит.} = 0,105	ОП _{крит.} = 0,101	ОП _{крит.} = 0,101	ОП _{крит.} = 0,108	ОП _{крит.} = 0,108	Субтип HBsAg	Генотип ВГВ
<i>N = 5, в методике [7] исследованы без разведения</i>											
1	1,230	0,495	2,48	0,895	1,220	0,018	0,012	ayw3	D		
2	1,500	0,243	6,17	0,211	0,216	0,010	0,011	ayw3	D		
3	0,915	0,201	4,55	1,500	1,700	3,380	0,769	ayw2	D		
4	0,859	0,361	2,38	1,450	1,590	3,240	0,515	ayw2	D		
5	1,220	0,117	10,4	0,447	0,551	0,983	0,021	ayw2	D		

Примечание: ¹ – вспомогательное измерение до внесения стоп-реагента; ² – позитивность образца (ПО) = $\frac{\text{ОП}_{\text{прям}}(\Pi)}{\text{ОП}_{\text{конк}}(K)}$ согласно инструкции изготовителя.

Чтобы оценить долю HBsAg-положительных образцов, в которых возможно установить гено- и субтипы ВГВ с применением данной методики, обратимся к ранее опубликованным данным большой скрининговой лаборатории, которая в 2016 году обследовала на наличие HBsAg образцы сыворотки крови 1 169 230 пациентов. Доля положительных результатов после проведения подтверждающих исследований составила 1,21 % от всех исследованных проб [11]. Подтверждение наличия HBsAg в них было проведено: 1) после единственного подтверждающего исследования при стандартном измерении ОП – 52,29%; 2) с помощью вспомогательного измерения – 21,10%; 3) после дополнительного исследования разведенных в 100 и более раз проб – 24,95% от всех (100%) HBsAg-положительных проб [11]. Следовательно, методика иммуноферментного гено- и субтиповирования ВГВ может быть эффективна для 21,10% проб с верифицированным с помощью вспомогательного измерения наличием антигена (подобно шести образцам, изученным в текущей работе) и еще для 24,95% положительных проб, в которых наличие HBsAg возможно подтвердить только при дополнительном разведении проб и в которых соответственно концентрация антигена еще выше (в текущей работе такие образцы не были исследованы). В сумме эту долю можно оценить как 46% позитивных по HBsAg проб, поступающих для проведения серологических исследований в клинико-диагностические лаборатории, проводящие, подобно данной [11], скрининговые и подтверждающие исследования на HBsAg.

В нашем исследовании с помощью МАТ валидные результаты иммуноферментного гено- и субтиповирования ВГВ были получены для 10 HBsAg-положительных образцов сыворотки крови. Во всех (10/10) случаях были установлены генотип D ВГВ, субтипы HBsAg ayw2 (7/10), ayw3 (3/10). Представленные результаты, полученные с помощью МАТ в ИФА, хорошо согласуются с данными молекулярной эпидемиологии о преобладании на территории РФ генотипа D [12–14] и субтипов ayw2, ayw3 [14, 15].

Полученные нами результаты расширяют диагностические границы определения генотипа ВГВ / субтипа HBsAg. В целом относительно простая методика ИФА может быть использована как альтернатива дорогостоящим молекулярно-биологическим методам и способствовать оперативному получению информации как об отдельном пациенте, так и о распределении генотипов ВГВ / субтипов HBsAg в различных субъектах Российской Федерации.

Сведения об авторах

Безуглова Людмила Вячеславовна, нач. отделения ИФА гепатита В.
E-mail: bezuglova@vector-best.ru. ORCID: 0000-0001-9527-8870

Потапова Александра Анатольевна, д.б.н., доцент кафедры биологии им. академика В. Н. Ярыгина². E-mail: aa.potapova@mail.ru.
ORCID: 0000-0001-7441-2559

Нетесова Ирина Григорьевна, к.б.н., научный консультант отделения ИФА гепатита В¹. E-mail: irina_netesova@hotmail.com. ORCID: 0000-0002-1953-5123

¹АО «Вектор-Бест», Новосибирская область, р.п. Кольцово

²ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н. И. Пирогова» Минздрава России, Москва

Автор для переписки: Безуглова Людмила Вячеславовна.
E-mail: bezuglova@vector-best.ru

Для цитирования: Безуглова Л. В., Потапова А. А., Нетесова И. Г. Алгоритм отбора образцов для гено- и субтиповирования вируса гепатита В с помощью панели monoclonalных антител в иммуноферментном анализе. Медицинский алфавит. 2023; (4): 30–33. <https://doi.org/10.33667/2078-5631-2023-4-30-33>.

Выводы

Для наиболее эффективного применения методики гено- и субтиповирования ВГВ с помощью панели МАТ в ИФА следует использовать образцы с ОП более 2,0 о.е. и верификацией наличия антигена при вспомогательном режиме регистрации результатов.

Список литературы / References

- Kramvis A. Genotypes and genetic variability of hepatitis B virus. *Intervirology*. 2014; 57 (3–4): 141–150. <https://doi.org/10.1159/000360947>
- Lin C-L, Kao J-H. Hepatitis B virus genotypes and variants. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*. 2015; 5 (5): a021436. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a021436>
- Liu Z, Zhang Y, Xu M, Li X, Zhang Z. Distribution of hepatitis B virus genotypes and subgenotypes: A meta-analysis. *Medicine (Baltimore)*. 2021; 100 (50): e27941. <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000027941>
- Couroude P-A, Maman L, Plancon A., Soulier J-P. Distribution of HBsAg subtypes in the world. *Vox Sanguinis*. 1983; 44 (4): 197–211. <https://doi.org/10.1111/j.1423-0410.1983.tb01885.x>
- Magnus LO, Norder H. Subtypes, Genotypes and Molecular Epidemiology of the Hepatitis B Virus as Reflected by Sequence Variability of the S-Gene. *Intervirology*. 1995; 38: 24–34. <https://doi.org/10.1159/000150411>
- Valsamakis A. Molecular testing in the diagnosis and management of chronic hepatitis B. *Clin Microbiol Rev*. 2007; 20 (3): 426–39. <https://doi.org/10.1128/CMR.00009-07>
- Безуглова Л. В., Мануилов Б. А., Осипова А. Л., Мосина Я. Д., Порываева В. А., Агафонова О. А., Могильник А. К., Нетесова И. Г. Результаты испытаний реагентов для иммуноферментного определения субтипа HBsAg и генотипа вируса гепатита В в образцах плазмы крови человека. Молекулярная генетика, микробиология и вирусология. 2020; 38 (4): 188–195. <https://doi.org/10.17116/molgen2020380411884>
- Bezuglova L.V., Manuilov B.A., Osipova A.L., Mosina Ya.D., Poryavaeva V.A., Agafonova O.A., Mogilyukh A.K., Netesova I.G., Netesov S.V., Netesova I.G. Results of tests of reagents for enzyme immunoassay for determination of HBsAg subtype and hepatitis B virus genotype in human plasma samples. *Molecular Genetics, Microbiology and Virology*. 2020; 38 (4): 188–195. <https://doi.org/10.17116/molgen2020380411884>
- Безуглова Л. В., Исаева О. В., Карлсен А. А., Ильченко Л. Ю., Слепцова С. С., Сарычар А. А., Порываева В. А., Мосина Я. Д., Агафонова О. А., Могильник А. К., Корегян К. К., Михайлов М. И., Нетесов С. В., Нетесова И. Г. Генотипы вируса гепатита В у пациентов с гепатитом D, определенные с помощью панели monoclonalных антител собственной разработки. Молекулярная генетика, микробиология и вирусология. 2022; 40 (2): 43–50. <https://doi.org/10.17116/molgen20224002143>
- О применении в практике здравоохранения иммуноферментных тест-систем для выявления поверхностного антигена вируса гепатита В (HBsAg) и антител к вирусу гепатита С (анти-HCV) в сыворотке крови человека. Приказ министерства здравоохранения № 322 от 21 октября 2002 года. Ссылка активна на 13.07.22. <https://docs.cntd.ru/document/901832500>
- On the use of enzyme immunoassay test systems in healthcare practice to detect hepatitis B surface antigen (HBsAg) and antibodies to hepatitis C virus (anti-HCV) in human blood serum. Order of the Ministry of Health of the Russian Federation No. 322 dated October 21, 2002. The link is active on 07/13/22. <https://docs.cntd.ru/document/901832500>
- Нетесова И. Г., Ярославцева О. А., Цой Л. В., Жуков В. А., Нетесов С. В. Результаты участия 360 лабораторий России в Программе внешней оценки качества исследований HBsAg. Клин. Lab. Диагн. 2007; 3: 47–49.
- Netesova I.G., Yaroslavtseva O.A., Tsoy L.V., Zhukov V.A., Netesov S.V. Results of the participation of 360 laboratories in Russia in the Program for external quality assessment of HBsAg research. *Clin. Lab. Diagn.* 2007; 3: 47–49.
- Шульгина М. М., Ермолаева М. И., Ефремова Е. В., Потапова А. А. Проблемы массового скрининга HBsAg и пути их решения. Медицинский алфавит. 2018; 1 (5): 26–30.
- Shulgina M.M., Ermolaeva M.I., Efremova E.V., Potapova A.A. Problems of mass screening of HBsAg and ways to solve them. *Medical Alphabet*. 2018; 1 (5): 26–30.
- Tallo T, Tefanova V, Priimagi L, Schmidt J, Kotargina O, Michailov M, et al. D2: Major subgenotype of hepatitis B virus in Russia and the Baltic region. *J General Virology*. 2008; 89: 1829–1839. <https://doi.org/10.1099/vir.0.83660-0>
- Olinger CM, Lazouskaya NV, Eremin VF, Muller CP. Multiple genotypes and subtypes of hepatitis B and C viruses in Belarus: similarities with Russia and western European influences. *Clinical Microbiology and Infection*. 2008; 14 (6): 575–581. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2008.01988.x>
- Мануилов Б. А., Осипова А. Л., Нетесова И. Г., Чуб Е. В., Безуглова Л. В., Нордер Н. и др. Распространенность различных генотипов и субтипов HBs-антител вируса гепатита В в группах коренного населения Сибири. Молекулярная генетика, микробиология и вирусология. 2015; 1: 28–35. <https://doi.org/10.3103/S089141681501005X>
- Мануилов Б. А., Осипова А. Л., Нетесова И. Г., Чуб Е. В., Безуглова Л. В., Нордер Н., Порываева В. А., Погапова А. А., Михайлова М. И., Нетесов С. В., Нетесова И. Г. Генотипы вируса гепатита В у пациентов с гепатитом D, определенные с помощью панели monoclonalных антител собственной разработки. Молекулярная генетика, микробиология и вирусология. 2015; 1: 28–35. <https://doi.org/10.17116/molgen20224002143>
- Сероварианты HBsAg и эволюция тестов для его выявления. https://www.fedlab.ru/upload/medicallibrary/3e9/mostovich-la_-serovarianty-hbsag--22-okt-2015-khmao.pdf. Ссылка активна на 13.07.2022. Сероварианты HBsAg и эволюция тестов для его выявления. https://www.fedlab.ru/upload/medicallibrary/3e9/mostovich-la_-serovarianty-hbsag--22-okt-2015-khmao.pdf. The link is active on 07/13/2022.

Статья поступила / Received 29.09.22

Получена после рецензирования / Revised 12.10.22

Принята в печать / Accepted 01.03.23

About authors

Безуглова Людмила Вячеславовна, chief of IFA of Hepatitis B Dept¹.

E-mail: bezuglova@vector-best.ru. ORCID: 0000-0001-9527-8870

Потапова Александра Анатольевна, D.Bio Sci (habil.), associate professor at Dept of Biology n.a. academician V. N. Yarygin². E-mail: aa.potapova@mail.ru. ORCID: 0000-0001-7441-2559

Нетесова Ирина Григорьевна, Ph.D Bio, scientific consultant at IFA of Hepatitis B Dept¹. E-mail: irina_netesova@hotmail.com. ORCID: 0000-0002-1953-5123

¹Vector-Best Co., Kol'tsovo, Novosibirsk Region, Russia

²Russian National Research Medical University n.a. N. I. Pirogov, Moscow, Russia

Corresponding author: Bezuglova Lyudmila V. E-mail: bezuglova@vector-best.ru.

For citation: Bezuglova L.V., Potapova A.A., Netesova I.G. Sampling algorithm for geno- and subtyping of hepatitis B virus using panel of monoclonal antibodies in enzyme immunoassay. *Medical alphabet*. 2023; (4): 30–33. <https://doi.org/10.33667/2078-5631-2023-4-30-33>.