

<https://doi.org/10.31631/2073-3046-2026-25-1-67-76>

Дифференциация субтипов 1a и 1b вируса гепатита С на основе анализа последовательностей NS5B и 5'UTR регионов методом ПЦР в реальном времени

С. Г. Марданлы^{1,3}, А. Г. Марданлы², В. В. Помазанов¹, В. А. Киселева¹, Т. В. Попова¹, И. И. Ильин^{1,3}, И. И. Ермолаев*³

¹ ГОУ ВО МО «Государственный гуманитарно-технологический университет», г. Орехово-Зуево, Россия

² Нахичыванский государственный университет, Нахичеванская Автономная Республика, Азербайджан

³ АО «ЭКОлаб», г. Электрогорск, Россия

Резюме

Актуальность. Вирус гепатита С обладает высокой генетической вариабельностью и представлен рядом генотипов и субтипов, различающихся по географическому распространению. Своевременное и высокоточное определение вируса гепатита С (ВГС) с последующим генотипированием является обязательным условием для начала анти-ВГС терапии. Молекулярно-биологический метод – полимеразная цепная реакция (ПЦР) в настоящее время признан «золотым стандартом» для проведения генотипирования ВГС. **Цель.** Изучить нуклеотидные последовательности NS5B и 5'UTR регионов ВГС для дифференциации субтипов 1a, 1b генотипа 1 (ГТ) с последующей апробацией разрабатываемой тест-системы, основанной на ПЦР в режиме реального времени (ПЦР-РВ). **Материалы и методы.** В исследовании было использовано 270 образцов плазмы крови пациентов инфицированных вирусом гепатита С. Подтверждение результатов ПЦР осуществляли путем сравнения группы исследуемых образцов с данными, полученными с использованием коммерчески доступных на рынке генотипирующих ПЦР-наборов, которые позволяют дифференцировать субтипы 1a и 1b. Специфичность ПЦР-системы оценивалась на 150 образцах вируса гепатита С, 100 из которых относятся к ГТ 3, оставшиеся 50 к ГТ 2. **Результаты и обсуждение.** Из проверенных 120 образцов плазмы крови большой процент образцов был определен как субтип 1b – 95 %, а 1a – 5 %, что соотносится с данными по определению субтипов 1a и 1b генотипирующими наборами, используемыми в данном исследовании. Также при секвенировании участков NS5B и 5'UTR было выявлено, что три образца содержали рекомбинантную форму ВГС 2k/1b, при этом один из них ранее был идентифицирован как ГТ 2. Проводимый тест на специфичность показал, что разрабатываемая ПЦР-система, использующая области NS5B и 5'UTR, не имела перекрестного взаимодействия со 100 образцами ГТ 3 и 49 образцами ГТ 2. **Выводы.** Полученные данные подтверждают возможность проведения анализа с использованием NS5B/5'UTR регионов и эффективность методики определения субтипов 1a, 1b ГТ 1 вируса гепатита С в клинической практике. В дополнение, применение предложенной ПЦР-системы позволило идентифицировать рекомбинантный вариант ВГС 2k/1b.

Ключевые слова: вирус гепатита С, генотипирование, секвенирование, субтипы 1a, 1b, рекомбинант 2k/1b, ПЦР в реальном времени

Конфликт интересов не заявлен.

Для цитирования: Марданлы С. Г., Марданлы А. Г., Помазанов В. В. и др. Дифференциация субтипов 1a и 1b вируса Гепатита С на основе анализа последовательностей NS5B и 5'UTR регионов методом ПЦР в реальном времени. Эпидемиология и Вакцинопрофилактика. 2026;25(1):67-76. <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2026-25-1-67-76>

Differentiation of hepatitis C virus subtypes 1a and 1b based on analysis of NS5B and 5'UTR region sequences using real-time PCR

SG Mardanly^{1,3}, AG Mardanly², VV Pomazanov¹, VA Kiseleva¹, TV Popova¹, II Ilyin^{1,3}, II Ermolaev**³

¹ GGTU, Orekhovo-Zuеvo, Russian Federation

² Nakhchivan State University, Nakhchivan Autonomous Republic, Republic of Azerbaijan

³ JSC «EKOlab», Elektrogorsk, Russian Federation

* Для переписки: Ермолаев Илья Игоревич, микробиолог научно-производственного отделения ПЦР, АО «ЭКОлаб», 142530, Россия, Московская область, г. Электрогорск, ул. Буденного, д. 1А. +7 (901) 595-13-82, ilermolaev962@gmail.com. ©Марданлы С. Г. и др.

** For correspondence: Ermolaev Ilya Ig., microbiologist of research and production department PCR, JSC «EKOlab», 1A St. Budyonnogo, Elektrogorsk, Moscow Region, 142530, Russia. +7 (901) 595-13-82, ilermolaev962@gmail.com. ©Mardanly SG, et al.

Abstract

Relevance. The hepatitis C virus has high genetic variability and is represented by a number of genotypes and subtypes that differ in their geographical distribution. Timely and highly accurate detection of the hepatitis C virus (HCV) followed by genotyping is a prerequisite for starting anti-HCV therapy. The molecular biological method—polymerase chain reaction (PCR)—is currently recognized as the “gold standard” for HCV genotyping. **Aim.** To study the nucleotide sequences of the NS5B and 5'UTR regions of HCV for the differentiation of subtypes 1a and 1b of genotype 1 (GT), followed by testing of the developed test system based on real-time PCR (RT-PCR). **Materials and methods.** The study examined 270 blood plasma samples infected with the hepatitis C virus. PCR results were confirmed by comparing the group of samples studied with data obtained using commercially available genotyping PCR kits, which allow differentiation between subtypes 1a and 1b. The specificity of the PCR system was evaluated on 150 hepatitis C virus samples, 100 of which belong to GT 3, and the remaining 50 to GT 2. **Results and discussion.** Of the 120 blood plasma samples tested, a large percentage of samples were identified as subtype 1b (95 %) and 1a (5 %), which corresponds to the data on the determination of subtypes 1a and 1b using the genotyping kits used in this study. Sequencing of the NS5B and 5'UTR regions also revealed that three samples contained the recombinant form HCV 2k/1b, one of which had previously been identified as GT 2. A specificity test showed that the PCR system under development using the NS5B and 5'UTR regions did not cross-react with 100 GT 3 samples and 49 GT 2 samples. **Conclusion.** The data obtained confirm the possibility of performing analysis using NS5B/5'UTR regions and the effectiveness of the method for determining subtypes 1a and 1b of hepatitis C virus genotype 1 in clinical practice. In addition, the use of the proposed PCR system made it possible to identify the recombinant variant HCV 2k/1b.

Keywords: Hepatitis C virus, genotyping, sequencing, subtypes 1a, 1b, recombinant 2k/1b, real-time PCR

Конфликт интересов не заявлен.

For citation: Mardanly SG, Mardanly AG, Pomazanov VV et al. Differentiation of hepatitis C virus subtypes 1a and 1b based on analysis of NS5B and 5'UTR region sequences using real-time PCR. *Epidemiology and Vaccinal Prevention*. 2026;25(1):67-76 (In Russ.). <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2026-25-1-67-76>

Введение

Вирус гепатита С способен вызывать как острые, так и хронические заболевания различной степени тяжести, которые в ряде случаев могут привести к циррозу или раку печени. В противоположность вирусу гепатита В, для которого создана и применяется вакцина, в отношении вируса гепатита С на сегодняшний день подобные меры не реализованы [1,2].

По статистике, вирусные гепатиты относятся к группе инфекционных заболеваний, смертность от которых до сих пор остаётся на высоком уровне [3,4]. Согласно Государственному докладу «О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2024 году», подготовленному Роспотребнадзором, на долю хронического гепатита С (ХГС) приходится 78,7 % всех зарегистрированных случаев хронических вирусных гепатитов (ХВГ) в стране. По статистике, приводимой Всемирной организацией здравоохранения (ВОЗ), численность лиц с ХГС на территории России составляет 2 663 597 человек. Если учитывать всех людей, живущих с хронической инфекцией ВГС, включая ранее излеченных представителей всех возрастных групп, этот показатель увеличивается до 2 807 219 человек [5,6]. Данные цифры подчеркивают значимость ХГС как приоритетной проблемы общественного здравоохранения и необходимости постоянного мониторинга заболеваемости, а также реализации профилактических и диагностических мероприятий на национальном уровне.

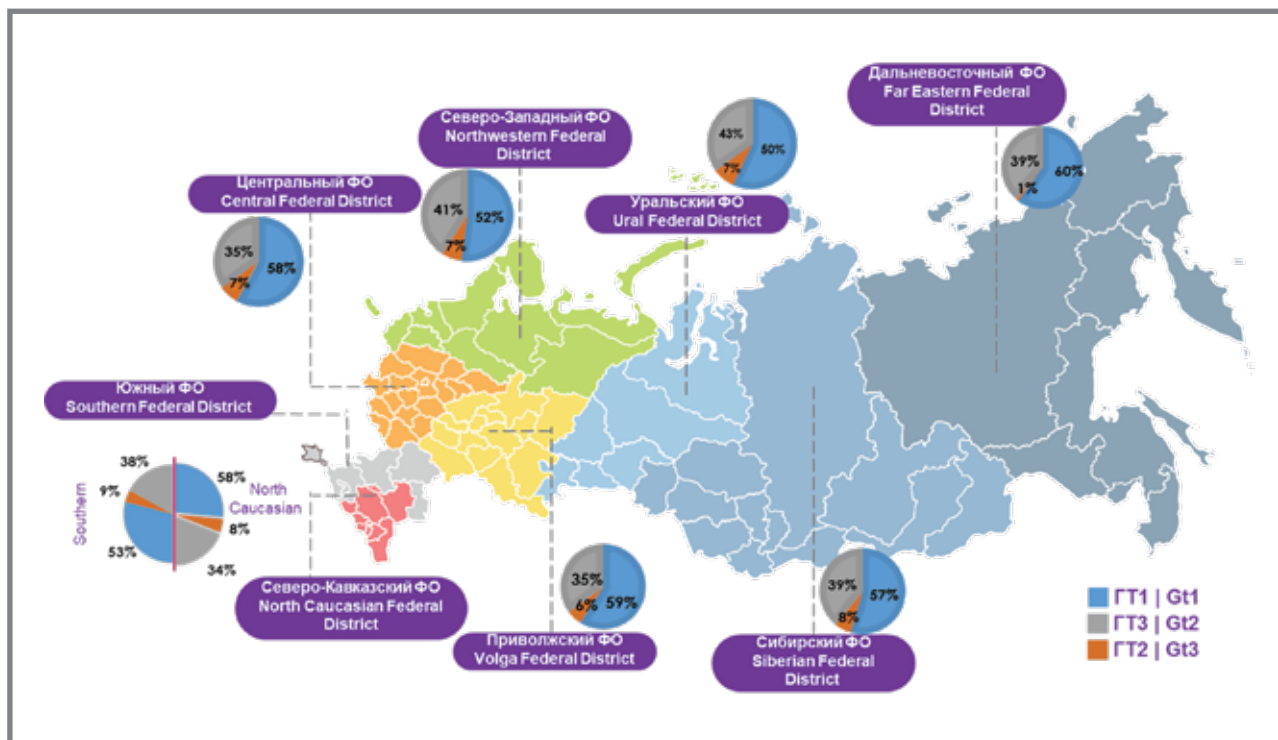
Вирус гепатита С относится к семейству *Flaviviridae* роду *Hepacivirus*, хотя многие его характеристики отличаются от характеристик других членов

семейства, включая структурную организацию. Его геном представлен одноцепочечной РНК положительной полярности длиной примерно 9600 нуклеотидных оснований, которая содержит одну открытую рамку считывания, кодирующую структурные и неструктурные белки, и в то же время окруженную высококонсервативными 5'- и 3'-нетранслируемыми областями (НТО) [7,8]. Особенностью, которая выделяет ВГС среди других вирусов, является высокая генетическая вариабельность. Причиной такой изменчивости служат мутации, которые возникают как на протяжении всего генома, так и внутри отдельных генов, в результате чего происходит постоянно динамично меняющаяся эволюция популяции вируса, что способствует выживанию ВГС и формированию устойчивости к противовирусным препаратам [9,10].

На основании высокой изменчивости вируса в основу современной классификации изолятов ВГС положен филогенетический анализ областей генома core/E1 и NS5B [11]. Согласно классификации Международного комитета по таксономии вирусов (ICTV- International Committee on Taxonomy of Viruses), на сегодняшний день выделено 8 генотипов и описано более 80 подтвержденных подтипов ВГС [12]. На территории Российской Федерации преобладающими являются генотипы 1, 2 и 3 (рис. 1) [13]. Напротив, генотипы 4–6 встречаются менее чем в 0,01% случаев, ГТ 7 и 8 – крайне редко [14,15].

Для определения генотипа/субтипа ВГС могут использоваться различные молекулярные методы, включая секвенирование, линейный зондовый анализ (INNO-LiPA) и ПЦР-РВ; последний признан золотым стандартом и используется в нашей стране как для качественного, так и количественного

Рисунок 1. Географическое распространение генотипов ВГС по федеральным округам
Figure 1. Geographic distribution of HCV genotypes by federal districts



определения вирусной нагрузки, а инфицированные GT 1, 2 и 3 пациенты, как правило, по-разному отвечают на противовирусную терапию [16–19].

Из числа наиболее распространенных GT и субтипов в Российской Федерации в большей степени среди всех пациентов с ХГС преобладает субтип 1b, что делает возможным применение генотипоспецифичных комбинаций назначения противовирусных препаратов [20]. Наряду с субтипом 1b, в нашей стране присутствует циркулирующая рекомбинантная форма ВГС 2k/1b, которая образовалась посредством гомологичной рекомбинации между геномами субтипов 2k и 1b [21,22]. В связи с уникальным строением данной формы ВГС и с выбором в качестве мишени в коммерческих тест-системах консервативных участков генома, она зачастую определяется как GT 2, а не как субтип 1b GT 1. Такая особенность значительно осложняет точную идентификацию в лабораторных условиях и может приводить к ошибкам при классификации [23].

Цель исследования: изучение нуклеотидной последовательности NS5B и 5'UTR региона ВГС для дифференциации субтипов 1a, 1b генотипа 1 (GT) с последующей апробацией на имеющихся образцах разрабатываемой тест-системы, основанной на ПЦР в режиме реального времени (ПЦР-РВ).

Материалы и методы

В исследовании было изучено 270 образцов плазмы крови, инфицированных вирусом гепатита С. Имеющиеся образцы хранились при температуре – 20 °С. Контрольную группу составили 120

образцов с подтверждённым генотипом 1 (114 образцов субтип 1b и 6 1a), вторая группа – 50 образцов с подтверждённым GT 2 и 100 – с GT 3.

В качестве наборов сравнения использовали тест-системы для генотипирования, присутствующие на рынке нашей страны, имеющие регистрационное удостоверение и позволяющие проводить субтипирование ВГС: AmpliSens «АмплиСенс® HCV-генотип-FL, вариант FRT-g1-4» и «ООО ДНК-Технология» «ОТ-ГЕПАТОГЕН-С ГЕНОТИП». Выделение нуклеиновой кислоты вируса гепатита С из плазмы крови для последующего генотипирования методом ПЦР в реальном времени осуществляли с применением метода экстракции, основанного на использовании магнитных частиц [24].

Для выбора генотип-специфичных олигонуклеотидных праймеров и зондов применяли программу Primer Express® Software v3.0.1. В процессе их разработки были использованы подтвержденные нуклеотидные последовательности субтипов 1a и 1b вируса гепатита С, депонированные в базах данных NCBI и Los Alamos National Laboratory [25]. В качестве референсных последовательностей для выравнивания и определения субтипов использовали изоляты 1a NC_004102.1 и 1b AF356827.1. Для определения рекомбинантной формы ВГС применяли последовательность RF1_2k/1b AY587845.1.

Исследование вирусной РНК выполняли методом обратной транскрипции с последующей полимеразной цепной реакцией в режиме реального времени (ОТ-ПЦР-РВ) на амплификаторе CFX96 (Bio-Rad, США). Для проведения реакции применяли специально разработанные пары

праймеров, включающие: праймеры, специфичные для субтипов 1a и 1b ВГС, а также праймеры, нацеленные на высококонсервативный участок генома – 5'-UTR.

Для подтверждения достоверности результатов генотипирования ампликоны, полученные с участков NS5B и 5'-UTR генома ВГС, отбирали для последующего секвенирования. Нарботка ампликонов выполнялась на амплификаторе CFX96 (Bio-Rad, США), что гарантировало воспроизводимость условий реакции и стабильность получаемых продуктов [26].

Реакцию ПЦР-РВ с обратной транскрипцией проводили в 25 мкл реакционной смеси, при этом концентрация каждого из пары праймеров составляла 30 мкМ, а зонда – 40 мкМ. В качестве матрицы использовали 5 мкл выделенной РНК ВГС с последующей амплификацией на приборе Bio-Rad CFX 96 по протоколу, где стадия обратной транскрипции сразу включена в протокол (рис. 2).

Секвенирование полученных продуктов проводили по методу Сэнгера в обоих направлениях с последующей интерпретацией полученных хроматограмм секвенирования с помощью программного обеспечения BioEdit version 7.0.0.

Проверку специфичности подбираемых праймеров проводили на 50 образцах с подтвержденным ГТ 2 и 100 – с ГТ 3.

Результаты и обсуждение

По результатам проведенных тестов по определению субтипа ВГС с использованием подобранных праймеров, нацеленных на NS5B/5'UTR области, в 114 пробах был определен субтип 1b и только в 6 – субтип 1a, что показало совпадение

с данными, ранее полученными при субтипировании тех же образцов с применением ПЦР-систем «АмплиСенс® HCV-генотип-FL, вариант FRT-g1-4» и «ОТ-ГЕПАТОГЕН-С ГЕНОТИП» (ООО ДНК-Технология). Кроме того, в 3 пробах был обнаружен рекомбинант 2k/1b.

При анализе выравненных сиквенсов пары праймеров и зондов, находящиеся в области гена NS5B, были подобраны таким образом, чтобы участки, на которые будет осуществляться посадка, содержали как можно меньшее количество замен (рис. 3).

На рисунке 3 представлены участки гена, в которых видны нуклеотидные различия, позволяющие дифференцировать один субтип от другого.

Для интерпретации результатов ПЦР-анализа с подобранными парами праймеров и зондом использовали следующий принцип: если в образце по одному из каналов наблюдался рост флуоресцентного сигнала по каналу FAM, то результат интерпретировался как «субтип 1a», если только по каналу ROX – то «субтип 1b» (рис. 4), где по оси абсцисс – количество циклов (Cycles), по оси ординат – уровень флуоресценции (RFU).

Также анализ результатов кривых амплификации по гену NS5B показал, что, несмотря на присутствие участков, позволяющих проводить дифференцировку субтипа 1b от субтипа 1a и других генотипов ВГС, встречаются образцы, которые содержат разное количество замен, что может влиять как на посадку праймеров, так и в дальнейшем на оценку результатов ПЦР.

Исходя из вышесказанного, альтернативным подходом является использование в качестве мишени второго, более консервативного, гена.

Рисунок 2. Программа амплификации нуклеиновых кислот с включенной стадией обратной транскрипции в одном протоколе
Figure 2. Nucleic acid amplification program with reverse transcription included in a single protocol

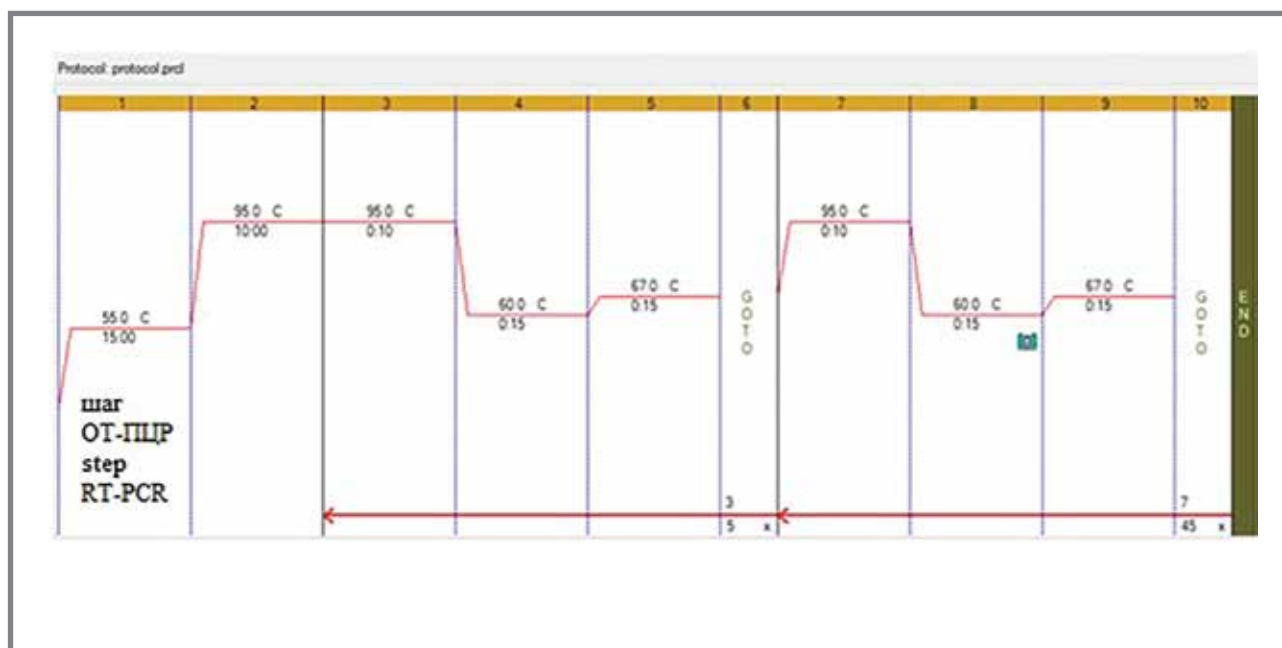


Рисунок 3. Фрагмент гена NS5B в выравненных сиквенсах на примере 8 образцов субтипа 1a и 6 образцов субтипа 1b. Различия в нуклеотидных последовательностях показаны красными зонами
Figure 3. NS5B gene fragment in aligned sequences for 8 samples of subtype 1a and 6 samples of subtype 1b. Differences in nucleotide sequences are shown in red areas

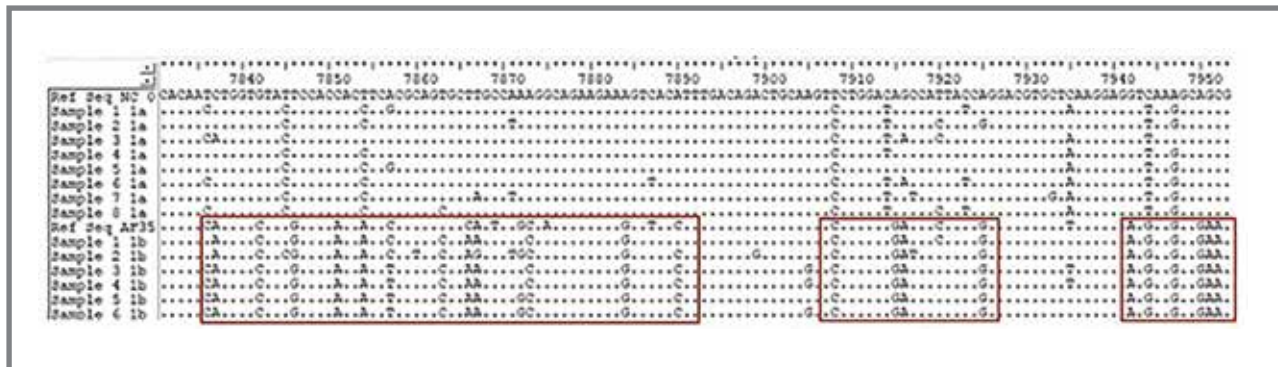
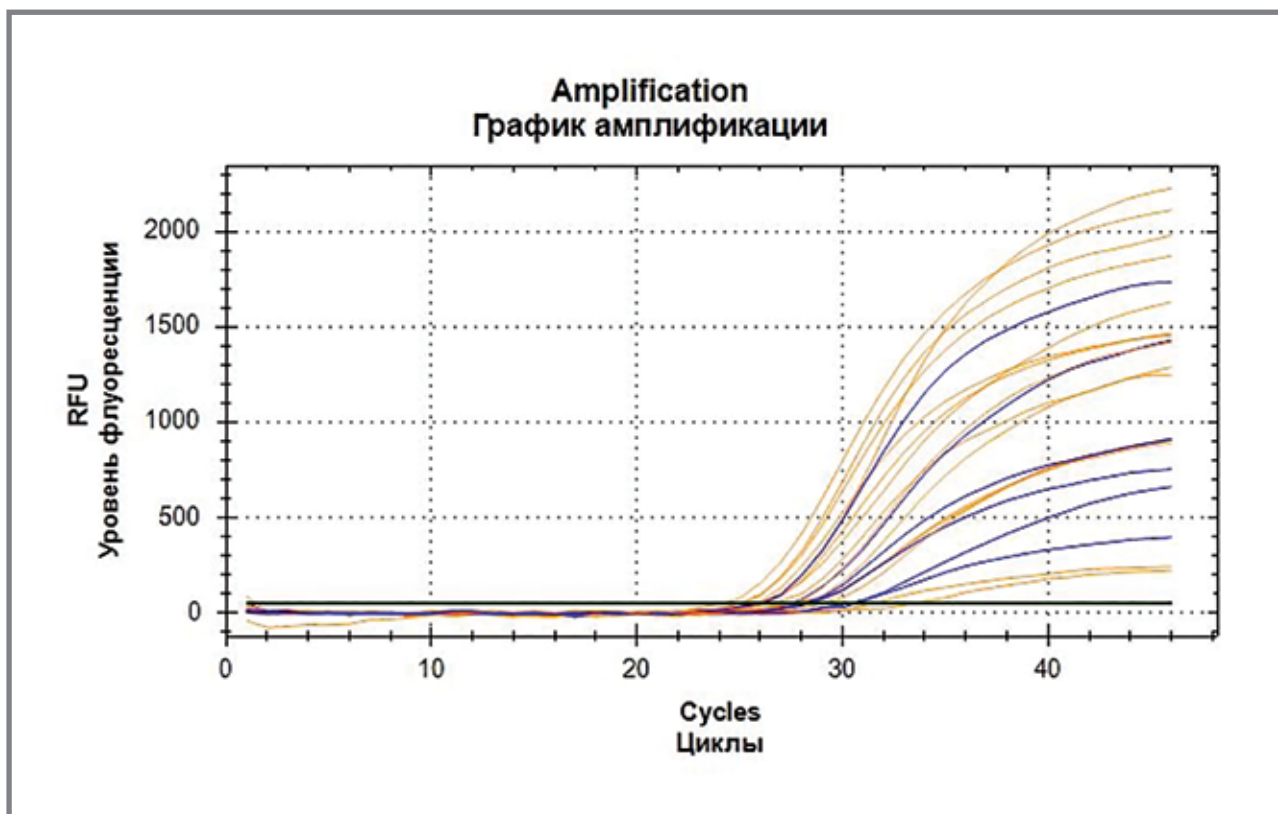


Рисунок 4. Результаты детекции образцов ВГС субтипов 1a, 1b по гену NS5B. Результат детекции по двум каналам (1a+1b) – синие кривые – выявление субтипа 1a, желтые кривые – выявление 1b
Figure 4. Results of detection for HCV subtype 1a and 1b samples based on the NS5B gene. Detection results for two channels (1a+1b) – blue curves indicate subtype 1a detection, yellow curves indicate subtype 1b detection



Пандемия COVID-19, вызванная РНК-вирусом SARS-CoV-2, продемонстрировала высокую скорость генетической изменчивости вируса, подчеркивая возможность своевременной и точной диагностики как ключевого элемента санитарно-эпидемиологического контроля. Для повышения достоверности проводимых тестов был применен подход с амплификацией по двум независимым генетическим мишеням – консервативной и вариабельной областям генома [27,28]. Такой подход позволил снизить риск ложноотрицательных

результатов, возникающих из-за точечных мутаций в одном из участков генома. Так как вирус гепатита С относится к РНК-содержащим вирусам с высокой изменчивостью, возможно использование подхода с применением двух мишеней, одна из которых будет нацелена на консервативный участок генома вируса, а вторая – на вариабельный участок (рис. 5).

Таким образом, использование второго гена 5'UTR в качестве мишени для амплификации позволяет повысить точность выявления ВГС, в том

Рисунок 5. График амплификации образцов субтипов 1a и 1b с использованием двух генов 5'UTR и NS5B.
A – график амплификации субтипа 1b, где отдельно в каждой смеси по одному из генов синими кривыми обозначен ген 5'UTR, желтыми кривыми – определение по гену NS5B; **Б** – график амплификации 1b, где два гена NS5B/5'UTR находятся в одной смеси; **В** – график амплификации субтипа 1a, где отдельно в каждой смеси по одному из генов зелеными кривыми обозначен ген 5'UTR, синими кривыми – определение по гену NS5B; **Г** – график амплификации 1a, где два гена NS5B/5'UTR находятся в одной смеси

Figure 5. Amplification graph of subtypes 1a and 1b samples using two genes, 5'UTR and NS5B.
A – an amplification plot for subtype 1b, where each mixture contains one of the genes separately; the blue curves indicate the 5'UTR gene, and the yellow curves indicate the NS5B gene; **B** – an amplification plot 1b where two NS5B/5'UTR genes are in the same mix; **C** – an amplification plot for subtype 1a, where each mixture contains one of the genes separately; the green curves indicate the 5'UTR gene, and the blue curves indicate the NS5B gene; **D** – an amplification plot 1a where two NS5B/5'UTR genes are in the single mix

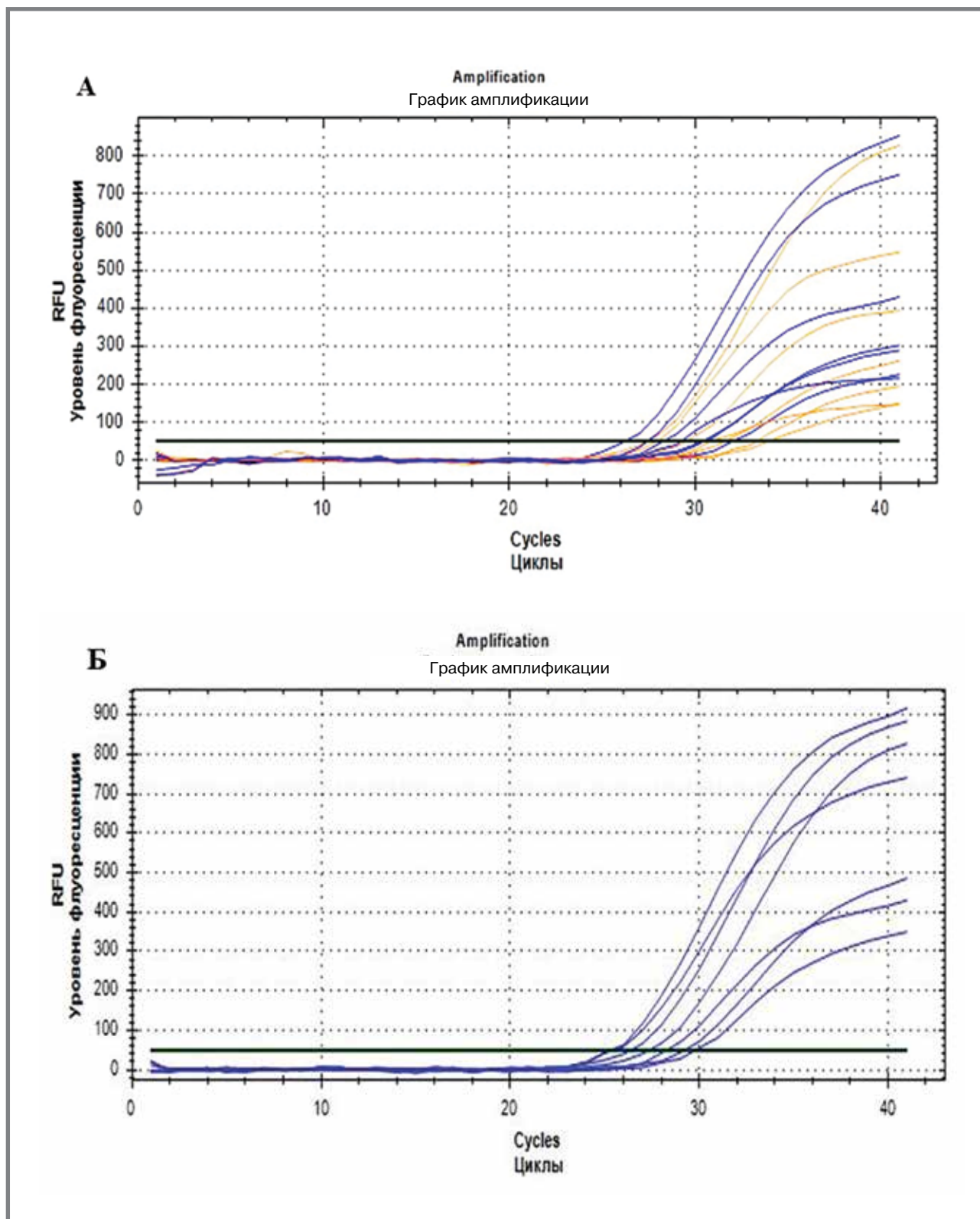
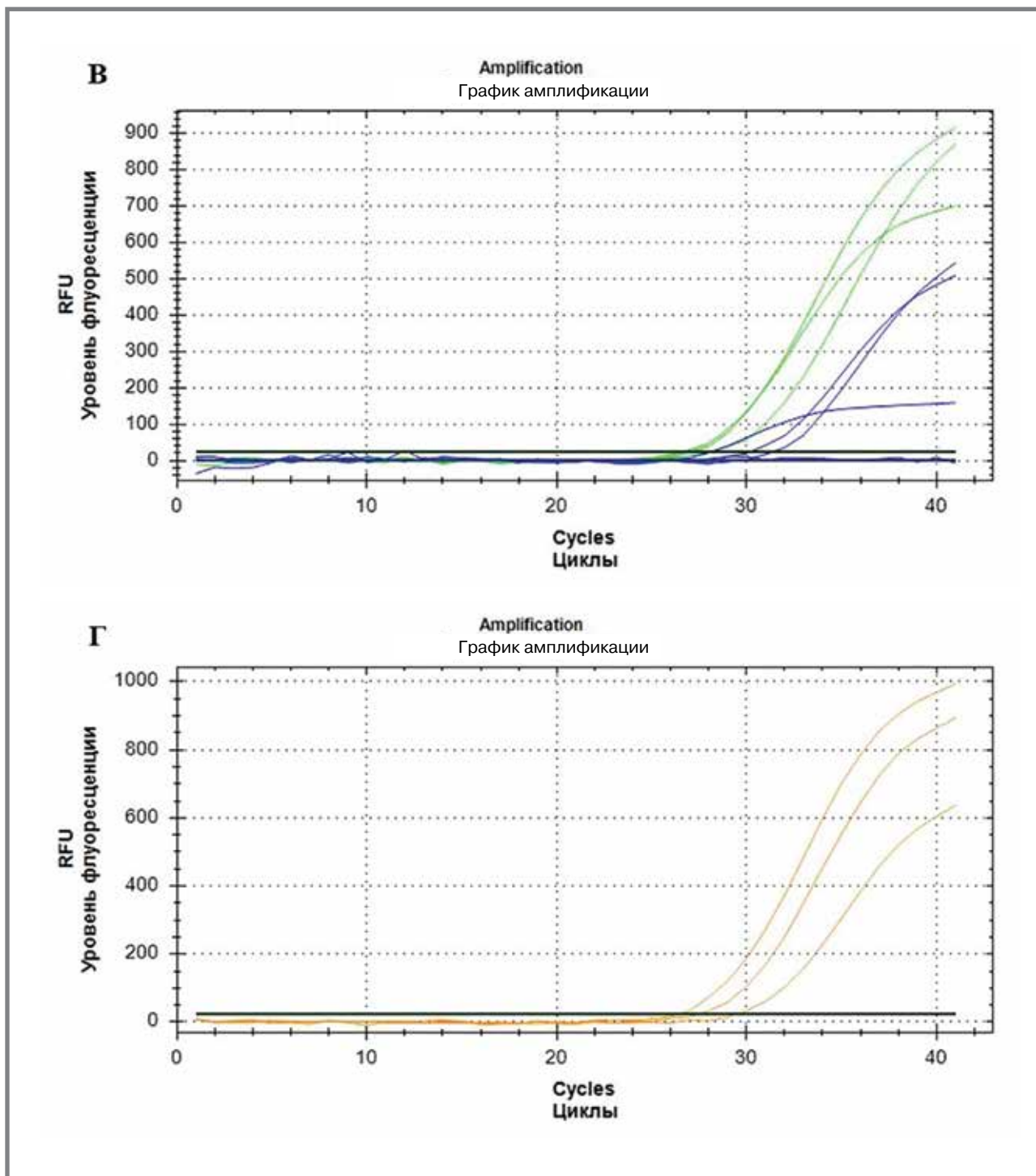


Рисунок 5. Продолжение
Figure 5. Continuation



случае, если в гене NS5B содержатся замены, затрудняющие посадку праймеров.

В дополнение к результатам, полученным при анализе нуклеотидных последовательностей гена 5'-UTR, в 3 пробах с использованием праймеров, нацеленных на NS5B, было обнаружено присутствие рекомбинантной формы 2k/1b.

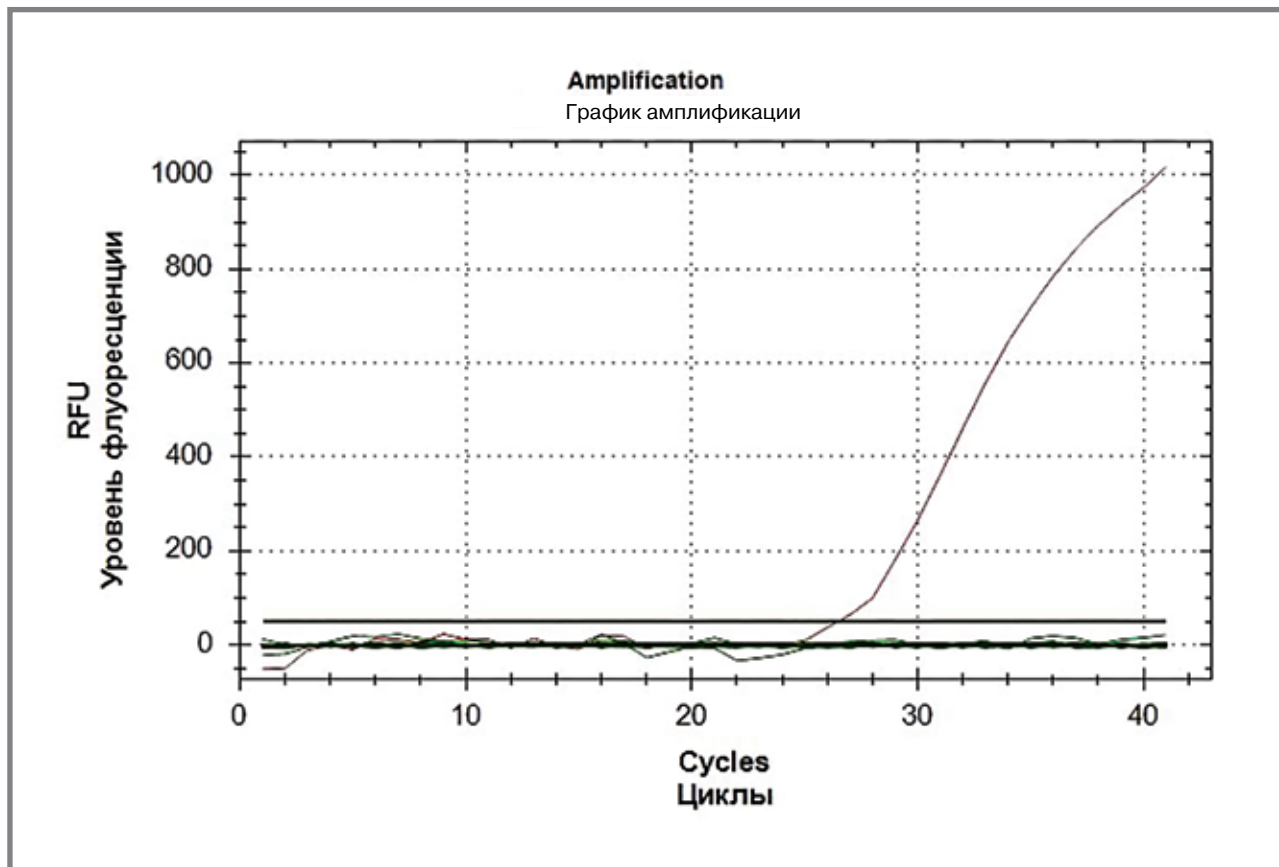
После проверки разрабатываемых пар праймеров, нацеленных на гены NS5B и 5'UTR для определения субтипов 1a и 1b, была проведена оценка специфичности. Результаты показали

отсутствие перекрёстного взаимодействия праймеров с ГТ 3, что подтверждает 100 % специфичность. Для генотипа 2 специфичность составила 98 %.

Дальнейший анализ выборки образцов, определенных как ГТ 2 с использованием коммерческих тест-систем, представленных на отечественном рынке, показал, что из 50 исследованных образцов в одной пробе наблюдался рост кривой флуоресценции с праймерами для определения субтипа 1b (рис. 6).

Рисунок 6. Результаты амплификации образца с праймерами на субтип 1b при проверке специфичности на образцах с ГТ 2

Figure 6. Results of sample amplification with primers for subtype 1b during specificity testing on samples with GT2



Последующее исследование данной пробы методом секвенирования по двум генам, подтвердило наличие в ней рекомбинантной формы 2k/1b, нуклеотидная последовательность которой соотносится с имеющимися литературными данными.

В результате проведенного исследования на данных образцах ВГС было установлено, что доля пациентов инфицированных ГТ 1, в частности, его субтипом 1b составила 95 %, а субтипом 1a – 5 %, что в целом соотносится с литературными данными по распространённости этих субтипов на территории Российской Федерации. Доля проверенных образцов, содержащих рекомбинантную форму 2k/1b, из общего числа образцов субтипа 1b составила около 1,8 %, а для образцов, определённых как ГТ 2, составила 2 %. Таким образом, исходя из полученных данных, подобранная комбинация праймеров для дифференцировки субтипов ГТ 1 показала, что рассматриваемые регионы 5'UTR и NS5B могут быть использованы для этой задачи, а также позволят выявлять рекомбинантную форму ВГС 2k/1b.

Заключение

Подобранные пары праймеров и зондов продемонстрировали достоверный результат по выявляемости и субтипированию ГТ 1 ВГС. Разрабатываемый ПЦР-анализ может позволить с улучшенной точностью дифференцировать субтип 1a и 1b от других субтипов и генотипов ВГС. Благодаря использованию в качестве мишени второго региона 5'UTR может быть повышена эффективность по выявлению ВГС, а выбор определенного участка в гене NS5B позволит одновременно определять субтип 1b и возможное присутствие рекомбинантной формы 2k/1b, что играет немаловажную роль при подборе оптимальных схем лечения.

Учитывая спонтанные изменения, возникающие в геноме ВГС, дальнейшая работа по оптимизации, оценке стабильности ПЦР-системы для выявления субтипов 1a, 1b будет продолжена, но уже на расширенной панели образцов и с последующей проверкой на специфичность с другими ГТ ВГС.

Литература

1. Maness D.L, Riley E, Studebaker G. Hepatitis C: Diagnosis and Management // American family physician. 2021. Vol. 104, N6. P. 626–635.
2. Liu C.H., Kao J.H. Acute hepatitis C virus infection: clinical update and remaining challenges // Clinical and molecular hepatology. 2023. Vol. 29, N3. P. 623–642.
3. Liu J., Yuan T., Xue L., et al. Pathogenesis, prevention, and therapeutic advances in hepatitis B, C, and D // Virology Journal. 2025. Vol. 22, N274. P. 1–22.

4. Martinello M, Solomon S.S, Terrault N.A. et al. Hepatitis C // *The Lancet*. 2023. Vol. 402, №10407. P.1085–1096.
5. Hepatitis - number of persons living with chronic hepatitis [Internet]. World Health Organization. Доступно по: <https://www.who.int/data/gho/data/indicators/indicator-details/GHO/hepatitis---number-of-persons-living-with-chronic-hepatitis>. Ссылка активна на 12 сентября 2025.
6. Государственный доклад «О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2023 году» [Internet]. Роспотребнадзор. Доступно по: https://www.rosпотребнадзор.ru/upload/iblock/fbc/sd3prfslzlc9c2r4xbmsb7o3us38nrpjk/Gosudarstvennyy-doklad_O-sostoyanii-sanitarno-epidemiologicheskogo-blagopoluchiya-naseleniya-v-Rossiyskoy-Federatsii-v-2023-godu_.pdf. Ссылка активна на 10 сентября 2025.
7. Tan S.L. editor. *Hepatitis C Viruses: Genomes and Molecular Biology*. Norfolk: Horizon Bioscience; 2006.
8. Reed K.E, Rice C.M. Overview of Hepatitis C Virus Genome Structure, Polyprotein Processing, and Protein Properties // *Current topics in microbiology and immunology*. 2000. Vol. 242. P. 55–84.
9. Fishman S.L, Branch A.D. The quasispecies nature and biological implications of the hepatitis C virus // *Infection, genetics and evolution: journal of molecular epidemiology and evolutionary genetics in infectious diseases*. 2009. Vol. 9, №6. P. 1158–1167.
10. Candelas F.G, López-Labrador F.X. Clinical relevance of genetic heterogeneity in HCV // *Future Virology*. 2010. Vol.5, N1. P. 33–49.
11. Лейбман Е.А., Николаева Л.И., Самохвалов Е.И. и др. Особенности течения гепатита С у детей в зависимости от субтипа вируса // *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2015. Т.14, №1. С. 49–55.
12. Flaviviridae: Hepacivirus C Classification [Internet]. International Committee on Taxonomy of Viruses. Доступно по: https://ictv.global/sg_wiki/flaviviridae/hepacivirus. Ссылка активна на 10 апреля 2025.
13. Pimenov N, Kostyushev D, Komarova S. et al. Epidemiology and Genotype Distribution of Hepatitis C Virus in Russia // *Pathogens*. 2022. Vol.11, N12. P. 1–11.
14. Пименов Н.Н., Комарова С.В., Карандашова И.В., и др. Гепатит С и его исходы в России: анализ заболеваемости, распространенности и смертности до начала программы элиминации инфекции // *Инфекционные болезни*. 2018. Т.16, №3. С. 37–45.
15. Хронический вирусный гепатит С [Internet]. Рубрикатор клинических рекомендаций. Доступно по: https://cr.minzdrav.gov.ru/preview-cr/516_2. Ссылка активна на 10 января 2025.
16. Stelzl E, Appel H, Mehta R, et al. Evaluation of the new cobas® HCV genotyping test based on real-time PCRs of three different HCV genome regions // *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*. 2017. Vol.55, N4. P. 517–521.
17. Жигалева О.Н., Марданлы С.Г., Гашенко Т.Ю. и др. Диагностика вируса гепатита С: разработка набора реагентов для качественного выявления и количественного определения РНК методом ПЦР // *Известия ГТТУ. Медицина, фармацевтика*. 2023. №4. С. 6–11.
18. Жигалева О.Н., Марданлы С.Г., Гашенко Т.Ю. и др. Разработка набора реагентов для качественного выявления РНК вируса гепатита С в клиническом материале методом ПЦР в режиме реального времени с гибридно-флуоресцентной детекцией // *Клиническая лабораторная диагностика*. 2023. Т.68, №7. С. 437–442.
19. Николаева Л.И., Сапронов Г.В., Колотвин А.В. и др. Гепатит С при инфицировании рекомбинантной формой вируса 2k/1b: течение и терапия // *Эпидемиология и инфекционные болезни*. 2023. Т.19, №3. С. 9–15.
20. Эсауленко Е.В., Ковеленов А.Ю., Новак К.Е. и др. Вирусный гепатит С в эпоху элиминации: выбор терапевтических схем с учетом фармакоэкономики на примере Ленинградской области // *Инфекционные болезни*. 2023. Т.21, №3. С. 27–37.
21. Süsser S, Dietz J, Schlevogt B, et al. Origin, prevalence and response to therapy of hepatitis C virus genotype 2k/1b chimeras // *Journal of hepatology*. 2017. Vol. 67, N4. P. 680–686.
22. Акимов И.А., Тимофеев Д.И., Мавзютов А.Р. и др. Выявление циркулирующей рекомбинантной формы RF1_2k/1b вируса гепатита С в сыворотке крови пациентов методом ОТ-ПЦР в режиме реального времени // *Клиническая лабораторная диагностика*. 2021. Т.66, №2. С. 122–128.
23. Дементьева Н.Е., Калинина О.В., Знойко О.О. и др. Циркулирующая рекомбинантная форма вируса гепатита С RF2k/1b: проблемы диагностики и терапии // *ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии*. 2016. Т.8, №1. С. 42–52.
24. Жигалева О.Н., Ильин И.И., Марданлы С.Г. и др. Разработка набора реагентов для выделения нуклеиновых кислот из клинического материала на основе магнитной абсорбции // *Клиническая лабораторная диагностика*. 2023. Т.68, №10. С. 654–661.
25. LANL resources [Internet]. Los Alamos National Laboratory. Доступно по: <https://www.lanl.gov/lanl-resources>. Ссылка активна на 10 мая 2025.
26. Жигалева О.Н., Ермолаев И.И., Марданлы С.Г. и др. Разработка набора реагентов для качественного обнаружения РНК вируса ВИЧ-1 методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени // *Клиническая лабораторная диагностика*. 2023. Т.68, №5. С. 298–304.
27. In Vitro Diagnostics EUAs - Molecular Diagnostic Tests for SARS-CoV-2 [Internet]. U.S. Food and Drug Administration. Доступно по: https://www.fda.gov/medical-devices/covid-19-emergency-use-authorizations-medical-devices/in-vitro-diagnostics-euas-molecular-diagnostic-tests-sars-cov-2?utm_source=chatgpt.com. Ссылка активна на 10 октября 2025.
28. Methods for the detection and characterisation of SARS-CoV-2 variants – first update [Internet]. European Centre for Disease Prevention and Control – Ecdc. Доступно по: https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/documents/Methods-for-the-detection-and-characterisation-of-SARS-CoV-2-variants-first-update.pdf?utm_source=chatgpt.com. Ссылка активна на 10 октября 2025.

References

1. Maness DL, Riley E, Studebaker G. Hepatitis C: Diagnosis and Management. *American family physician*. 2021;104(6):626–635.
2. Liu C.H, Kao JH. Acute hepatitis C virus infection: clinical update and remaining challenges. *Clinical and molecular hepatology*. 2023;29(3):623–642. doi: 10.3350/cmh.2022.0349
3. Liu J, Yuan T, Xue L, et al. Pathogenesis, prevention, and therapeutic advances in hepatitis B, C, and D. *Virology Journal*. 2025;22(274):1–22. doi: 10.1186/s12985-025-02907-3
4. Martinello M, Solomon SS, Terrault NA, et al. Hepatitis C. *The Lancet*. 2023;402(10407):1085–1096. doi: 10.1016/S0140-6736(23)01320-X
5. Hepatitis - number of persons living with chronic hepatitis [Internet]. World Health Organization. Available at: <https://www.who.int/data/gho/data/indicators/indicator-details/GHO/hepatitis---number-of-persons-living-with-chronic-hepatitis>. Accessed 12 Sep 2025.
6. State report “On the state of sanitary and epidemiological well-being of the population in the Russian Federation in 2023” [Internet]. Роспотребнадзор. Available at: https://www.rosпотребнадзор.ru/upload/iblock/fbc/sd3prfslzlc9c2r4xbmsb7o3us38nrpjk/Gosudarstvennyy-doklad_O-sostoyanii-sanitarno-epidemiologicheskogo-blagopoluchiya-naseleniya-v-Rossiyskoy-Federatsii-v-2023-godu_.pdf. Accessed 10 Sep 2025. (In Russ).
7. Tan S.L. editor. *Hepatitis C Viruses: Genomes and Molecular Biology*. Norfolk: Horizon Bioscience; 2006.
8. Reed K.E, Rice C.M. Overview of Hepatitis C Virus Genome Structure, Polyprotein Processing, and Protein Properties. *Current topics in microbiology and immunology*. 2000;242:55–84. doi: 10.1007/978-3-642-59605-6_4
9. Fishman S.L, Branch A.D. The quasispecies nature and biological implications of the hepatitis C virus. *Infection, genetics and evolution: journal of molecular epidemiology and evolutionary genetics in infectious diseases*. 2009;9(6): 1158–1167. doi: 10.1016/j.meegid.2009.07.011
10. Candelas F.G, López-Labrador F.X. Clinical relevance of genetic heterogeneity in HCV. *Future Virology*. 2010;5(1):33–49. doi.org/10.2217/FVL.09.63
11. Leybman EA, Nikolaeva LI, Samokhvalov EI, et al. Course of Childhood Hepatitis C Depending on the Viral Genotype. *Epidemiology and Vaccinal Prevention*. 2015;14(1):49–55. (In Russ). doi.org/10.31631/2073-3046-2015-14-1-49-55
12. Flaviviridae: Hepacivirus C Classification [Internet]. International Committee on Taxonomy of Viruses. Available at: https://ictv.global/sg_wiki/flaviviridae/hepacivirus. Accessed 10 Apr 2025.
13. Pimenov N, Kostyushev D, Komarova S. et al. Epidemiology and Genotype Distribution of Hepatitis C Virus in Russia. *Pathogens*. 2022;11(12):1–11. doi: 10.3390/pathogens11121482
14. Pimenov NN, Komarova SV, Karandashova IV, et al. Hepatitis C and its outcomes in Russia: analysis of incidence, prevalence and mortality rates before the start of the programme of infection elimination. *Infekc. bolezni (Infectious diseases)*. 2018;16(3):37–45. (In Russ). doi: 10.20953/1729-9225-2018-3-37-45
15. Chronic viral hepatitis C [Internet]. Clinical guidelines rubricator. Available at: https://cr.minzdrav.gov.ru/preview-cr/516_2. Accessed 10 Jan 2025.
16. Stelzl E, Appel H, Mehta R, et al. Evaluation of the new cobas® HCV genotyping test based on real-time PCRs of three different HCV genome regions. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*. 2017;55(4):517–521. doi: 10.1515/cclm-2016-0620
17. Zhigaleva O.N, Mardanly SG, Gashenko TYu, et al. Hepatitis C virus diagnostics: development a reagent kit for qualitative detection and quantification of RNA by PCR method. *Izvestiya GGTU. Meditsina, farmatsiya*. 2023;4:6–11. (In Russ). doi: 10.51620/2687-1521-2023-4-16-6-11
18. Zhigaleva ON, Mardanly SG, Gashenko TYu, et al. Development of a reagent kit for qualitative detection of Hepatitis C virus RNA in clinical material by real-time PCR with hybridization-fluorescence detection. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika*. 2023;68(7):437–442. (In Russ). doi: 10.51620/0869-2084-2023-68-7-437-442
19. Nikolaeva LI, Sapronov GV, Kolotvin AV, et al. Hepatitis C in infection with recombinant strain RF2K/1b of the virus: clinical course and therapy. *Epidemiologiya i infeksionnye bolezni*. 2023;19(3):9–15. (In Russ).
20. Esaulenko EV, Kovelonov AI, Novak KE, et al. Hepatitis C in the era of elimination: the choice of therapeutic regimens taking into account pharmacoeconomics on the example of the Leningrad region. *Infektsionnye bolezni*. 2023;21(3):27–37. (In Russ). doi: 10.20953/1729-9225-2023-3-27-37
21. Süsser S, Dietz J, Schlevogt B, Zuckerman E, et al. Origin, prevalence and response to therapy of hepatitis C virus genotype 2k/1b chimeras. *Journal of hepatology*. 2017;67(4):680–686. doi: 10.1016/j.jhep.2017.05.027
22. Akimov IA, Timofeev DI, Mavzyutov AR, et al. Detection of circulating HCV recombinant form RF1_2k/1b in blood serum of patients by real-time RT-PCR. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika*. 2021;66(2):122–128. (In Russ). doi: 10.51620/0869-2084-2021-66-122-128

Practical Aspects of Epidemiology and Vaccine Prevention

23. Dementyeva NYe, Kalinina OV, Znoyko OO, et al. The circulating recombinant form RF2k/1b of hepatitis C virus: problems in diagnostics and therapy. *VICH-infektsiya i immunosupressii*. 2016;8(1):42–52. (In Russ). doi: 10.22328/2077-9828-2016-8-1-42-52
24. Zhigaleva ON, Ilin II, Mardanly SG, et al. Development of a set of reagents for the isolation of nucleic acids from clinical material based on magnetic adsorption. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika*. 2023;68(10):650–657. (In Russ). doi: 10.51620/0869-2084-2023-68-10-650-657
25. LANL resources [Internet]. Los Alamos National Laboratory. Available at: <https://www.lanl.gov/lanl-resources>. Accessed 10 May 2025.
26. Zhigaleva ON, Ermolaev II, Mardanly SG, et al. Development of the reagent kit for qualitative realtime detection of HIV-1 RNA by polymerase chain reaction. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika*. 2023;68(5):298–304. (In Russ). doi: 10.51620/0869-2084-2023-68-5-298-304
27. In Vitro Diagnostics EUAs - Molecular Diagnostic Tests for SARS-CoV-2 [Internet]. U.S. Food and Drug Administration. Available at: https://www.fda.gov/medical-devices/covid-19-emergency-use-authorizations-medical-devices/in-vitro-diagnostics-euas-molecular-diagnostic-tests-sars-cov-2?utm_source=chatgpt.com. Accessed 10 Oct 2025.
28. Methods for the detection and characterisation of SARS-CoV-2 variants – first update [Internet]. European Centre for Disease Prevention and Control – Ecdc. Available at: https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/documents/Methods-for-the-detection-and-characterisation-of-SARS-CoV-2-variants-first-update.pdf?utm_source=chatgpt.com. Accessed 10 Oct 2025.

Об авторах

- **Сейфаддин Гашимович Марданлы** – д. м. н., профессор кафедры фармакологии и фармацевтических дисциплин ГОУ ВО МО «Государственный гуманитарно-технологический университет»; директор по науке, АО «ЭКОлаб». +7 (909) 992-14-94, ekolab-president@mail.ru. ORCID: 0000-0003-3650-2363.
- **Акиф Гашим оглы Марданлы** – к. с.-х. н., доцент кафедры ботаники, Нахичыванский государственный университет, Республика Азербайджан. +994-55-785-92-57, hacizadehuzure@ndu.edu.az. ORCID: 0009-0000-0754-0956.
- **Владимир Васильевич Помазанов** – д. т. н., профессор кафедры фармакологии и фармацевтических дисциплин ГОУ ВО МО «Государственный гуманитарно-технологический университет». +7 (985) 786-11-76, alliya2005@yandex.ru. ORCID: 0000-0002-7336-9912.
- **Валентина Алексеевна Киселева** – к. м. н., декан фармацевтического факультета ГОУ ВО МО «Государственный гуманитарно-технологический университет». +7 (916) 804-9254, farmmgogi@mail.ru. ORCID: 0000-0003-3565-1981.
- **Татьяна Владимировна Попова** – к. х. н., заведующая кафедрой фармакологии и фармацевтических дисциплин ГОУ ВО МО «Государственный гуманитарно-технологический университет». +7 (965) 328-23-58, tvpopova45@yandex.ru. ORCID: 0000-0003-0426-3126.
- **Илья Игоревич Ильин** – микробиолог, АО «ЭКОлаб»; аспирант кафедры фармакологии и фармацевтических дисциплин ГОУ ВО МО «Государственный гуманитарно-технологический университет». +7 (962) 997-18-48, ilin.ii123@yandex.ru. ORCID: 0009-0003-0316-7260.
- **Илья Игоревич Ермолаев** – микробиолог, АО «ЭКОлаб». +7 (901) 595-13-82, iltermolaev962@gmail.com. ORCID: 0000-0003-0982-3970.

Поступила: 21.11.2025 Принята к печати: 03.02.2026

Контент доступен под лицензией CC BY 4.0.

About the Authors

- **Seyfaddin G. Mardanly** – Dr. Sci. (Med.), professor department of Pharmacology and Pharmaceutical Disciplines GGTU; head of science, JSC «EKOLab». +7 (909) 992-14-94, ekolab-president@mail.ru. ORCID: 0000-0003-3650-2363.
- **Akif G. Mardanly** – Cand. Sci. (Agr.), associate professor department of Botany, Nakhchivan State University, Republic of Azerbaijan. +994-55-785-92-57, hacizadehuzure@ndu.edu.az. ORCID: 0009-0000-0754-0956.
- **Vladimir V. Pomazanov** – Dr. Sci. (Eng.), professor department of Pharmacology and Pharmaceutical Disciplines GGTU. +7 (985) 786-11-76, alliya2005@yandex.ru. ORCID: 0000-0002-7336-9912.
- **Valentina A. Kiseleva** – Cand. Sci. (Med.), Dean of the Faculty of Pharmacy GGTU. +7 (916) 804-9254, farmmgogi@mail.ru. ORCID: 0000-0003-3565-1981.
- **Tat'yana V. Popova** – Cand. Sci. (Chem.), head of the Department of Pharmacology and Pharmaceutical Disciplines GGTU. +7 (965) 328-23-58, tvpopova45@yandex.ru. ORCID: 0000-0003-0426-3126.
- **Il'ya Ig. Ilyin** – microbiologist, JSC «EKOLab»; postgraduate student of the Department of Pharmacology and Pharmaceutical Disciplines GGTU. +7 (962) 997-18-48, ilin.ii123@yandex.ru. ORCID: 0009-0003-0316-7260.
- **Il'ya Ig. Ermolaev** – microbiologist, JSC «EKOLab». +7 (901) 595-13-82, iltermolaev962@gmail.com. ORCID: 0000-0003-0982-3970.

Received: 21.11.2025 Accepted: 03.02.2026

Creative Commons Attribution CC BY 4.0.