

21. Romanenko V.V., Esyunin M.S., Kilyachina A.S. Experience in organizing mass immunization program against tick-borne encephalitis in the Sverdlovsk region. *Vopr. virusol.* 2007. 6: 22 – 25 (in Russian).
22. Korenberg E.I. *Molecular Biological Methods and Study of Natural Focality Diseases. Successes of modern biology.* 2012; 132 (5): 448 – 462.

Эволюция и изменчивость вируса гепатита С и особенности современной лабораторной диагностики маркеров гепатита С

Л.И. Николаева¹ (L.I.Nikolaeva@mail.ru), Е.А. Лейбман^{1,2}, Г.В. Сапронов³

¹ФГБУ «Федеральный научно-исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, Москва.

²ГБОУ ДПО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, Москва.

³Российская медицинская академия последиplomного образования, Москва

Резюме

Вирус гепатита С (ВГС), идентифицированный в 1989 – 1990 годах, был включен в новый род *Hepacivirus* семейства *Flaviviridae*. Из-за генетической гетерогенности классификацию изолятов ВГС было решено проводить по последовательности нуклеотидов в определенной зоне генома на генотипы и субтипы. Было установлено, что вирус поражает только человека и шимпанзе.

Современные молекулярно-эпидемиологические данные, полученные после 2000 года, свидетельствуют о моноцентричном происхождении ВГС из Африки, вероятнее всего – из центральной части. Очевидно, в Африке сформировались условия для проникновения вируса от неизвестного млекопитающего, не относящегося к приматам, к человеку.

К настоящему моменту обнаружены родственные вирусы у домашних и диких животных: собак, лошадей, летучих мышей и грызунов. Наиболее распространенная гипотеза происхождения ВГС – от неустановленного пока вируса рода *Hepacivirus*, который не поражает приматов, поэтому его включают в группу неприматных гепацивирусов (NPHV).

В прошлом веке в нашей стране возник межгенотипный рекомбинант вируса – RF_2k/1b.

Изменчивость ВГС на современном этапе характеризуется появлением серологически слабовыраженных форм вируса. На фоне противовирусной терапии могут накапливаться и распространяться устойчивые к лекарственным препаратам варианты ВГС.

Ключевые слова: вирус гепатита С, происхождение, изменчивость, резистентные варианты вируса

Evolution and Diversity of Hepatitis C Virus and Peculiarity of Modern Laboratory Diagnostic of Hepatitis C Markers

L.I. Nikolaeva¹ (L.I.Nikolaeva@mail.ru), E.A. Leybman^{1,2}, G.V. Sapronov³

¹Federal Budgetary State Establishment «Federal State Research Centre of Epidemiology and Microbiology named by N.F. Gamaley» of the Russian Ministry of Healthcare, Moscow

²State Educational Institute of Higher Professional Training of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation «Russian National Research Medical University named by N.I. Pirogov», Moscow

³State Budgetary Educational Institution for Additional Higher Professional Training «Russian Medical Academy of Post-Graduate Education», Moscow

Abstract

Hepatitis C virus (HCV), which was identified in 1989 – 1990. Later it was included in new genus *Hepacivirus* of the family *Flaviviridae*. Due the genetic heterogeneity of HCV, viral isolates was decided to classify on genotypes and sybtypes in accordance with the sequence of nucleotides in a certain area of the genome. It was discover that the virus infect only human and chimpanzee.

Modern molecular epidemiological data, obtained after 2000, indicate monocentric origin of HCV from Africa, most likely from the central part. Probably, in Africa the conditions for feeling HCV-like virus from unknown non-primate mammal to human were formed.

Recently HCV-like viruses were found in dogs, horses, bars, and rodents. The most common hypothesis of the HCV origin base on unknown virus, which is belong to genus *Hepacivirus* and does not infect human-like primate. The virus is included into group of non-primate hepacivirus (NPHV).

In last centure in our country viral intergenotype recombinant RF_2k/1b was appeared. In modern time HCV diversity can appeared as serology poor displayed forms of the virus. Drug-resistant variants of HCV can accumulate and disseminate again the background of antiviral therapy.

Key words: hepatitis C virus, origin, diversity, viral resistant variants

Первые публикации о гепатите С (ГС), называемом в то время посттрансфузионным (или парентеральным) гепатитом ни А, ни В, относятся к 1970 – 1980 годам [1, 2]. В тот период постановка диагноза «парентеральный гепатит ни А, ни В» базировалась на наличии факторов риска (переливание крови, операции и т.д.), длительно сохраняющихся повышенных значениях аланин- и аспаратаминотрансфераз и на отсутствии маркеров уже известных гепатитов А, В и D. Этиологический агент этого заболевания еще долгое время оставался неустановленным из-за очень низкого его содержания в крови.

В 1989 – 1990 годах с помощью появившихся новых молекулярно-генетических методов (прежде всего полимеразной цепной реакции) удалось клонировать фрагменты генома патогена и сделать реконструкцию его полного генома [3, 4]. Организация генома патогена позволила идентифицировать его как вирус семейства *Flaviviridae* [5, 6]. У членов этого семейства геном представлен однонитевой РНК с положительной полярностью и размером от 9,6 до 12,3 тыс. нуклеотидов. В геноме имеется одна рамка считывания, ограниченная 5- и 3-нетранслируемыми областями (НТО). Геном кодирует один большой белок, называемый полипротеином. После расщепления полипротеина клеточными и вирусными ферментами образуются структурные белки (N-концевая зона) и неструктурные белки (С-концевая зона). С 1990 года идентифицированный вирус стали называть вирусом гепатита С (ВГС) [4]. В это время в семействе *Flaviviridae* было два рода – *Pestivirus* и *Flavivirus*. Предварительный анализ структуры генома и аминокислотных последовательностей оболочечных белков нового вируса показал его сходство с рядом растительных вирусов рода *Pestivirus*, что позволило выдвинуть гипотезу о происхождении ВГС от какого-то древнего вируса этого рода [5]. Более детальный анализ выявил различия в структуре ряда зон генома по сравнению как с родом *Pestivirus*, так и с родом

Flavivirus, поэтому ВГС был включен в новый род *Hepacivirus* (рис. 1) [7].

По мере накопления сведений о нуклеотидных последовательностях различных изолятов ВГС стала очевидна ярко выраженная генетическая гетерогенность генома вируса [6, 8, 9]. Сложности классификации изолятов ВГС привели в начале 1990-х годов к созданию международной экспертной группы, которая разработала рекомендации по систематизации изолятов в отдельные генотипы и подгенотипы (субтипы или подтипы) в зависимости от нуклеотидной последовательности зоны генома NS5B [10]. В результате было выделено 6 генотипов и несколько десятков субтипов (рис. 2). Генотипы ВГС различаются по нуклеотидной последовательности полного генома на 31 – 33%, подтипы – на 20 – 25%, а вариации в пределах субтипа составляют менее 10% [10].

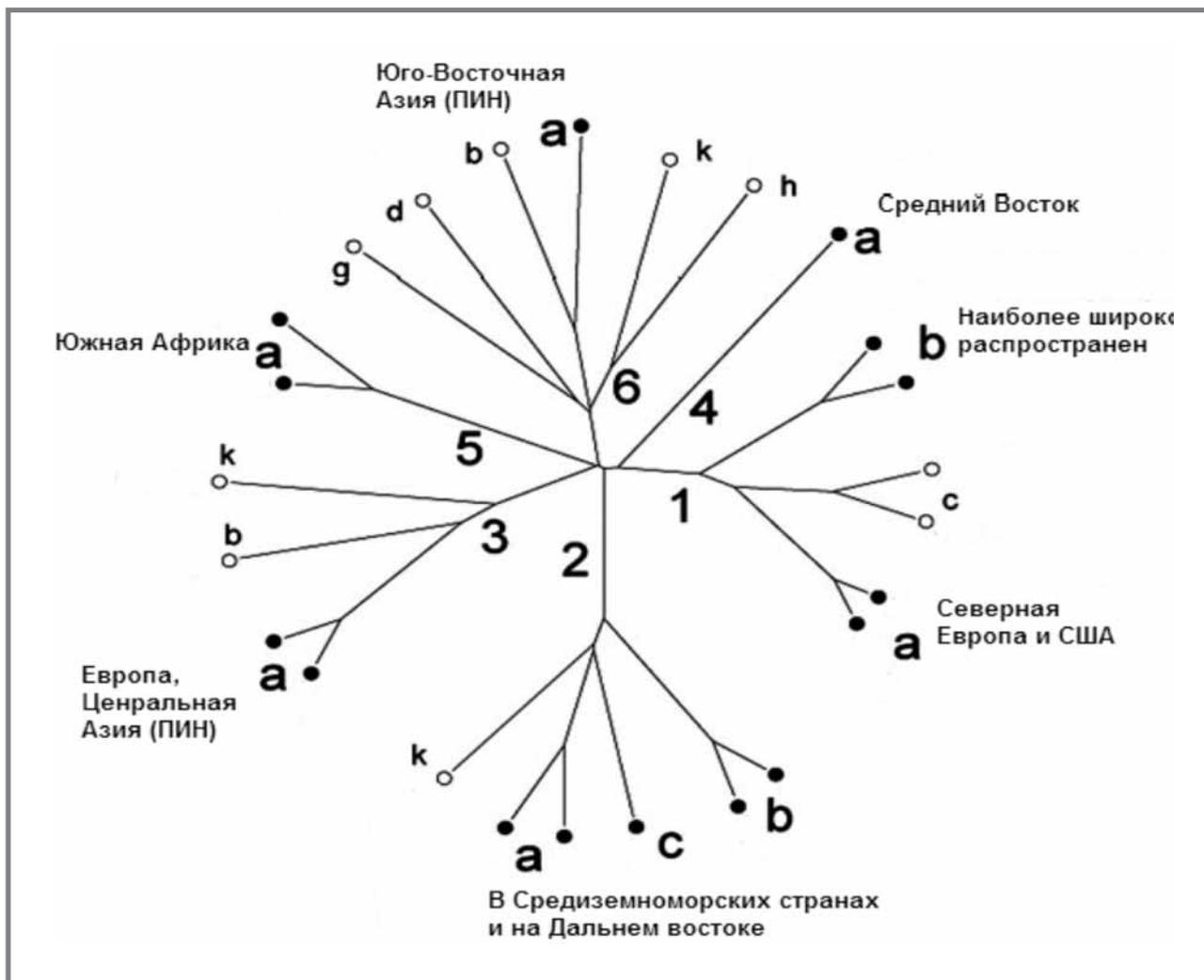
Отдельные генотипы распространены широко по континентам, другие – менее, есть варианты вируса, которые часто встречаются на определенной территории. Наиболее распространен ВГС генотипов 1, 2 и 3, менее – 4, 5 и 6, вирус генотипа 5 чаще всего выявляется на юге Африки [10, 11]. По разнообразию генотипов и субтипов ВГС доминируют два континента – Азия и Африка. С учетом этого и еще ряда других фактов сформировалась гипотеза о двухцентровом происхождении ВГС – в Азии и Африке [12].

Очень интересен вопрос о времени появления генотипов ВГС. Зная ответ на него, можно приблизиться к периоду возникновения самого вируса. Время появления разных генотипов устанавливают по дивергенции (расхождению) генотипов, которую рассчитывают, используя молекулярно-генетический метод, называемый «молекулярные часы». В этом методе анализируются синонимичные аминокислотные замены в белке NS5B и соответствующие им нуклеотидные замены. Синонимичные замены не влияют на свойства белка, потому что при таких заменах хотя и появляется новый ами-

Рисунок 1.
Схемы организации белковых зон в полипротеинах у представителей трех родов семейства *Flaviviridae*

Вирус клещевого энцефалита (род <i>Flavivirus</i>):	core-prM-E-NS1-NS2A-NS2B-NS3-NS4A-NS4B-NS5
Вирус гепатита С (род <i>Hepacivirus</i>):	core-E1-E2-p7-NS2-NS3-NS4A-NS4B-NS5A-NS5B
Вирус классической чумы свиней: (род <i>Pestivirus</i>):	N ^{pro} -core-E ^{ms} -E1-E2-p7-NS2-NS3-NS4A-NS4B-NS5A-NS5B

Рисунок 2.
Филогенетическая схема 6 генотипов и основных субтипов ВГС представлена в упрощенной модификации по P. Simmonds и соавт. [11]



ноокислотный остаток, но его физико-химические свойства очень близки к свойствам старого. Для расчета времени дивергенции нужно было установить скорость нуклеотидных замен в какой-либо консервативной зоне генома ВГС. В 1997 году по образцам крови женщин, инфицированных из одного источника еще в 1970-х годах, была рассчитана скорость нуклеотидных замен в зоне NS5B, которая составила $4,1 \times 10^{-4}$ нуклеотид/позиция/год [13]. В дальнейшем для вычисления времени дивергенции вирусных генотипов были использованы: зона генома NS5B, установленная скорость нуклеотидных замен ($4,1 \times 10^{-4}$) и сложные компьютерные программы расчета. Однако время дивергенции довольно сильно колебалось по данным разных исследователей, как и время проникновения ВГС в человеческую популяцию (от 500 до 2000 лет назад) [12, 13].

Подводя итог, отметим, что в конце 1990-х годов сформировалось мнение, что ВГС возник в Африке и Азии и проник в человеческую популяцию от 500 до 2000 лет назад. Вирус был включен в новый род

Hepacivirus семейства *Flaviviridae*. Из-за генетической гетерогенности классификацию изолятов ВГС проводили по последовательности нуклеотидов в определенной зоне генома. Также было установлено, что вирус поражает только человека и шимпанзе. Как показали A. Bassett и соавторы, у шимпанзе, экспериментально инфицированных ВГС, течение инфекции имеет более легкую форму, а самопроизвольное выздоровление в острой фазе происходит чаще, чем у людей [14]. Первооткрывателями ВГС была высказана гипотеза, что первоисточником инфекции для людей стали приматы, но не высшие [4].

Современные представления о происхождении ВГС и открытие новых близкородственных вирусов

Современные подходы для анализа эволюции ВГС и его генотипов, в отличие от ранних, базируются на том, что скорость изменчивости вируса непостоянна, на нее влияют многие факторы: способы передачи инфекции; плотность населения; культурный уровень населения; рождаемость

и смертность; величина географической зоны, где встречается генотип или субтип, и ряд других [15].

Современные молекулярно-эпидемиологические данные, полученные после 2000 года, свидетельствуют о моноцентричном происхождении ВГС из Африки, вероятнее всего – из центральной части континента [16]. Очевидно, в Африке сформировались условия для проникновения вируса от неизвестного млекопитающего, не относящегося к приматам, к человеку [12, 17]. Сохранению инфекции в человеческом сообществе способствовали местные культурные и религиозные традиции: татуировка тела, клитеродектомия, циркумцизия и др. Доказана высокая частота (даже типичность) внутрисемейной передачи ВГС и высокая степень (до 15%) поражения населения отдельных деревень в Западной и Центральной Африке [16, 18]. Высокое разнообразие и дивергенция вирусных вариантов свидетельствуют о большой длительности инфекции в Африке – более 1300 лет. Возможным периодом возникновения являются 500 – 700-е годы нашей эры.

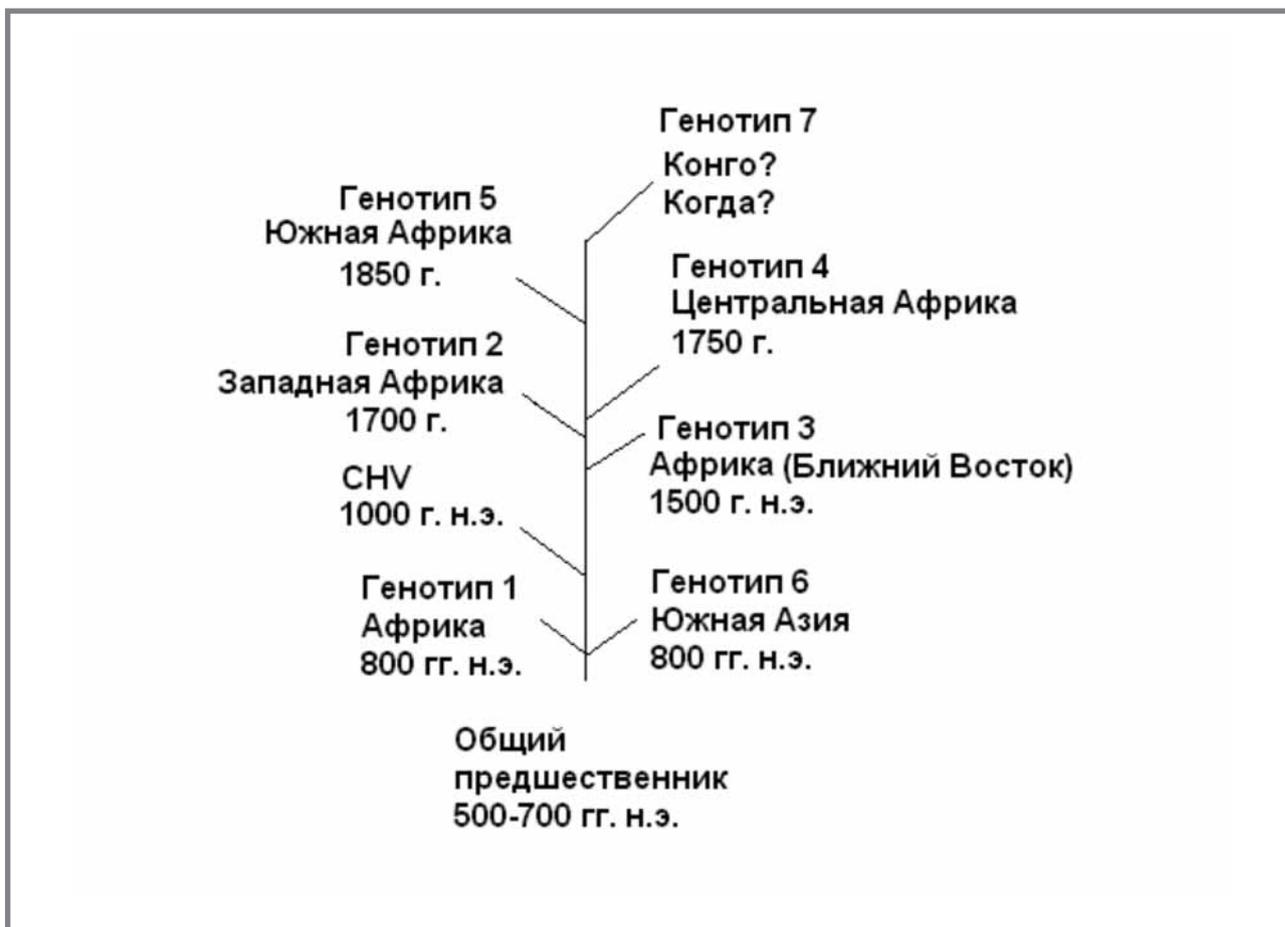
Наиболее древний генотип ВГС – первый, который из Африки распространился впоследствии на другие континенты [16 – 18]. Вторым или, возможно, одновременным по времени возникновения генотипом был 6-й генотип. Его появление связы-

вают с проникновением ВГС в Южную и Юго-Восточную Азию из Африки. На основании молекулярно-генетических данных, полученных в последние годы [17 – 22], можно построить временную схему возникновения отдельных генотипов ВГС, которая представлена на рисунке 3.

К 2014 году количество выявленных субтипов ВГС приблизилось к 100, были обнаружены рекомбинантные формы вируса, что привело к необходимости пересмотра правил классификации изолятов. Международная экспертная группа приняла решение о выделении семи генотипов, а для классификации изолятов рекомендовала определять нуклеотидную последовательность областей 5'-НТО – core и NS5B [23]. Новый, 7-й генотип еще слабо изучен.

За последние 10 лет обнаружены вирусы, ставшие членами семейства *Flaviviridae*, что привело к расширению и уточнению состава рода *Hepacivirus* и созданию нового рода *Pegivirus* [24]. Членом рода *Hepacivirus* стал недавно выявленный вирус собак (CHV), который, по мнению ряда ученых, эволюционно связан с ВГС [25]. Около 1000 лет назад ВГС адаптировался к собакам, и появился самостоятельный новый вирус – CHV. Однако существует мнение, согласно которому CHV возник от родственного вируса лошадей [26]. Недавно выявлены близкие к

Рисунок 3.
Схема возникновения ВГС и отдельных вирусных генотипов с учетом наиболее вероятного времени (генотипы 1 и 6 представлены как очень близкие по времени возникновения. Также указано появление ВГС)



ВГС вирусы у летучих мышей (BHV), лошадей (NPHV/CHV) и грызунов (RHV) [27 – 29]. Характеристика по этим вирусам представлена в таблице 1.

Итак, к настоящему моменту установлено происхождение ВГС из Африки. Обнаружены родственные вирусы у домашних и диких животных: собак, лошадей, летучих мышей и грызунов. Наиболее распространенная гипотеза – происхождение ВГС от неустановленного пока вируса рода *Hepacivirus* [17]. Но этот гипотетический вирус не поражает приматов, поэтому его включают в группу неприматных гепацивирусов (NPHV), куда также попадают ВГС-родственные вирусы собак, лошадей и некоторых летучих мышей и грызунов [26].

Особенности лабораторной диагностики ГС на современном этапе

Современная лабораторная диагностика маркеров ВГС основана на определении РНК вируса, core-антигена и специфических антител. Наиболее ранним сывороточным маркером при острой инфекции является РНК ВГС. Выявление вирусной РНК в лабораторной диагностике состоит из двух этапов: первый – выделение общего пула нуклеиновых кислот, второй – накопление специфической вирусной РНК при помощи метода ОТ-ПЦР. Чувствительность обнаружения РНК ВГС зависит в основном от первого этапа – от выделения РНК. Метод ОТ-ПЦР достиг предела чувствительности. В последние годы в нашей стране появились сертифицированные коммерческие наборы для выделения РНК на специфических носителях – например, на парамагнитных частицах. В результате чувствительность обнаружения РНК ВГС поднялась до 10 и 15 МЕ/мл вместо 50 – 500 МЕ/мл (табл. 2). Такая чувствительность очень важна для оценки результатов противовирусной терапии и раннего обнаружения инфекции в случае, когда установлен риск инфицирования.

Второй по времени появления вирусный маркер при острой ВГС-инфекции – это core-антиген.

Он выявляется в крови на неделю позже вирусной РНК и служит хорошим дополнением в период «серонегативного окна». Полностью исключить риск ложноположительной или ложноотрицательной реакции при определении РНК ВГС нельзя. Вот почему обнаружение core-антигена – удобный маркер, подтверждающий инфицирование ВГС. Но и здесь большое значение имеет чувствительность определения этого антигена. Конечно, она выше при хемилюминесцентной детекции (до 3 фМоль/л, или 0,06 пикограмм/мл), чем при классической иммуноферментной реакции с обнаружением продукта через окисление хромогена пероксидазой хрена. При хемилюминесцентной детекции нужен более дорогостоящий прибор. Между содержанием РНК ВГС в сыворотке и концентрацией core-антигена существует хорошо выраженная корреляция [30, 31]. Вероятно, в ряде случаев можно установить содержание РНК ВГС через концентрацию core-антигена, учитывая коэффициент корреляции. Современные отечественные и зарубежные иммуноферментные тест-системы позволяют определять core-антиген в присутствии специфических антител.

ВГС-специфические антитела выявляются с помощью скрининговых иммуноферментных тест-систем (ИФТС) и подтверждающих тестов, в основном иммуноблоттинговых. Для анализа большого количества образцов более удобны скрининговые ИФТС, для подтверждения позитивности в образцах из серой зоны – наиболее специфичные иммуноблоттинговые тесты. Неспецифичность в скрининговых и некоторых ИФТС типа «Спектр», сконструированных на основе рекомбинантных антигенов, может возникнуть из-за примесных белков. Сведения о вирусных маркерах инфекции и о тест-системах приведены в таблице 2.

Большинство иммуноферментных тест-систем создано в начале 1990-х годов. Рекомбинантные антигены, используемые в этих тест-системах, обычно имеют аминокислотные последовательности, установленные по изолятам 1990-х, которые

Таблица 1.
Свойства родственных ВГС новых вирусов

Род и представители	Гомология нуклеотидной последовательности с зоной NS5B ВГС	Круг хозяев, тропизм, исход инфекции
<i>Hepacivirus</i> : GBV-B	48 – 62%	Обезьяны Старого Света. Гепатотропизм. Инфекция с выздоровлением в большинстве случаев [24]
CHV	50%	Собаки. Эпителий дыхательного тракта. Вероятно, есть летальность [25]
NPHV (CHV-подобные)	49%	Лошади. Гепатотропизм. Острая и хроническая инфекция (22%) без повреждения печени [26, 28]
BHV	35 – 46%	Летучие мыши. Тропизм не изучен. Нет патологии [27]
RHV	16 – 41%	Грызуны. Гепатотропизм. Возможен гепатит [29]
<i>Pegivirus</i> : GBV-A	53 – 55%	Обезьяны Старого Света. Лимфотропизм. Длительная инфекция без патологии [24]
GBV-C	40 – 50%	Люди. Лимфотропизм. Длительная инфекция без патологии [24]
BPgV	39 – 71%	Летучие мыши. Тропизм не изучен. Нет патологии [27]

Таблица 2.
ВГС-специфические маркеры, время их появления и чувствительность теста

Маркеры	Время появления при внутривенном инфицировании	Тест-системы (один из вариантов)	Чувствительность
РНК ВГС	1 – 2-я неделя	Реал-Бест РНК ВГС (Россия)	10 или 15 МЕ/мл
Core-Ag	3-я неделя	Architect HCV Ag-assay (США)	3 – 20 000 фемтоМоль/л
Анти-ВГС IgM	4 – 7-я неделя	РекомбиБест анти-ВГС IgM	Титр 1:4 (объем сыворотки 20 мкл)
Анти-core IgG Анти-NS3 IgG	5 – 8-я неделя	Анти-ВГС-спектр (Россия)	Титр 1:2,5 (40 мкл)
Анти- NS4AB IgG Анти-NS5A IgG	6 – 9-я неделя	Анти-ВГС-спектр (Россия)	Титр 1:2,5 (40 мкл)

соответствуют вирусу субтипа 1a. Учитывая высокую изменчивость вируса, возникает вопрос: как хорошо эти тест-системы выявляют антитела от недавно инфицированных пациентов? Сильно ли изменились В-клеточные эпитопы белков ВГС за 20 – 25 лет? Уже есть сообщения о наличии пациентов, не имеющих антител к core-антигену – одному из самых иммуногенных антигенов ВГС [32]. Такое отсутствие антител авторы публикации связывают с мутациями в области core-зоны.

Генетические изменения ВГС, наблюдаемые в настоящее время

Относительно недавно, в 1930 – 1950 годы, в нашей стране возник межгенотипный вариант ВГС – RF_2k/1b [33]. Этот вариант вируса попал в среду потребителей инъекционных наркотиков (ПИН) и в начале 2000-х годов с частотой около 3% определялся у ПИН, проживающих в Санкт-Петербурге. В 2014 году у детей, инфицированных матерями (доля ПИН у которых была высока) из Москвы и Московской области, частота встречаемости RF_2k/1b составила 4,8% [34]. Очевидно, в общей популяции ВГС-инфицированных лиц его

встречаемость будет меньше. Однако надо отметить, что вариант RF_2k/1b довольно быстро распространился (в течение 70 – 80 лет).

Зная свойство вируса ускользать от иммунного контроля, можно предположить, что в будущем будет происходить накопление серологически слабо выраженных форм гепатита С, когда антитела образуются к одному или двум антигенам вируса и в небольших титрах. Такие случаи были обнаружены нами впервые за 15 лет наблюдения (табл. 3). Принимая во внимание приведенные в таблице данные, можно предположить, что уже есть изменения в В-эпитопах не только core-антигена, но и в антигенах NS4AB и NS5A. Неизвестно, как много таких вариантов и как быстро они распространяются.

По данным зарубежных экспертов, около 10% всех инфицированных ВГС людей получают противовирусную терапию [35]. Остальные не лечатся по разным причинам: имеют противопоказания; не знают о своем статусе; не могут оплатить лечение и т.д. Лица, достигшие устойчивого вирусологического ответа (УВО), больше не являются источником инфекции. А пациенты, не достигшие УВО (так на-

Таблица 3.
Пациенты с серологически слабовыраженным гепатитом С

Показатели	Пациент 1	Пациент 2	Пациент 3
Длительность ХГС	11 лет	Около 12 лет	Около 5 лет
Содержание РНК, МЕ/мл	2,2 x 10 ⁶	7,63 x 10 ⁶	4,85 x 10 ⁶
Стадия фиброза по METAVIR	F1-2	F1-2	F0-1
Генотип ВГС	2k/1b	1a	3a
Содержание core-антигена, фМ/л	8290	9676	8980
Анти-ВГС IgM	0	0	0
Анти-core IgG	0	0	0
Анти-NS3 IgG	1:4	1:16	1:64
Анти-NS4AB IgG	0	1:4	0
Анти-NS5A IgG	0	0	0

зываемые неотвечки), могут участвовать в инфекционном процессе. В последнее время появились данные о существовании вирусных факторов, ассоциированных с невозможностью достичь УВО: определенные мутации в областях генома core, NS3 и NS5A [36 – 38]. Показана возможность существования у пациента еще до начала терапии устойчивых вариантов ВГС в наборе квазивидов вируса. С этими устойчивыми вариантами и связывают невозможность достичь УВО при двойной и тройной терапии. Вероятно, устойчивые варианты вируса будут накапливаться в популяции зараженных лиц. Но, учитывая новые схемы терапии, большого распространения эти варианты вируса не должны получить.

Таким образом, в нашей стране существует межгенотипный рекомбинант, частота его определения в некоторых группах больных достигает 3% и более. Выявляются больные с хроническим гепатитом С со слабо выраженным гуморальным ответом на антигены ВГС. В процессе терапии могут накапливаться устойчивые к лекарственным препара-

там варианты вируса.

Заключение

Вирус гепатита С – древний патоген человека, который проник в человеческую популяцию, вероятнее всего, около 1500 лет назад. В последние годы выявлены новые родственные ВГС вирусы животных, которые могут помочь понять происхождение ВГС.

В прошлом веке в нашей стране возник межгенотипный рекомбинант ВГС – RF_2k/1b. Изменчивость ВГС проявляется в появлении серологически слабо выраженных форм вируса. На фоне противовирусной терапии могут накапливаться и формироваться устойчивые к лекарственным препаратам варианты ВГС.

Выражаем признательность Е.И. Самохвалову, К.К. Кюрегану и О.В. Исаевой за определение генотипов ВГС в образцах крови пациентов (представлены в таблице 3).

Литература

1. Feinstone S., Kapikian A.Z., Purcell R.H., Alter H.J., Holland P. Transfusion-associated hepatitis not due to viral hepatitis type A or B. *N. Engl. J. Med.* 1975; 292: 767 – 70.
2. Prince A. M. Nature of non-A, non-B hepatitis viruses. *Lancet.* 1982; 1: 1181 – 1187.
3. Choo Q.-L., Kuo G., Weiner A.J., Overby L.R., Bradley D.W., Houghton M. Isolation of a cDNA clone derived from blood-borne non-A, non-B viral hepatitis genome. *Sci.* 1989; 244: 359 – 362.
4. Choo Q.-L., Weiner A.J., Overby L.R., Kuo G., Houghton M., Bradley D.W. Hepatitis C virus: the major causative agent of non-A, non-B viral hepatitis. *British Med. Bulletin.* 1990; 46: 423 – 441.
5. Miller R.H., Purcell R.H. Hepatitis C virus shares amino acid sequence similarity with pestiviruses and flaviviruses as well as members of two plant virus supergroups. *PNAS (USA).* 1990; 87: 2057 – 2061.
6. Choo Q.-L., Richman H., Han J.H., Berger K., Lee C., Dong C. et al. Genetic organization and diversity of the hepatitis C virus. *PNAS (USA).* 1991; 88: 2451 – 2455.
7. Robertson B., Myers G.C., Howard T., Brettin J., Bukh B., Gaschen et al. Classification, nomenclature, and database development for hepatitis C virus (HCV) and related viruses: proposal for standardization. *International Committee on virus taxonomy. Arch. Virol.* 1998; 143: 2493 – 2503.
8. Garry R.F., Dash S. Proteomic computational analyses suggest that hepatitis C virus E1 and pestivirus E2 envelope glycoproteins are truncated class II fusion proteins. *Virology.* 2003; 307: 255 – 265.
9. Bukh J., Miller R.H., Purcell R.H. Genetic heterogeneity of hepatitis C virus: quasispecies and genotypes. *Semin. Liver Dis.* 1995; 15: 41 – 63.
10. Simmonds P., Holmes E.C., Cha T.A., Chan S.W., McOmish F., Irvine B. et al. Classification of hepatitis C virus into six major genotypes and a series of subtypes by phylogenetic analysis of the NS-5 region. *J. Gen. Virol.* 1993; 74: 2391 – 2399.
11. Simmonds P., Bukh J., Combet C., Deleage G., Enomoto N., Feinstone S. et al. Consensus proposal for a unified system of nomenclature of hepatitis C virus genotypes. *Hepatology.* 2005; 42: 962 – 973.
12. Simmonds P. Reconstructing the origins of human hepatitis viruses. *Phil. Trans. R. Soc. Lond.* 2001; 356: 1013 – 1026.
13. Smith D.B., Pathirana S., Davidson F., Lawlor E., Power J., Yap P.L. et al. The origin of hepatitis C virus genotypes. *J. Gen. Virol.* 1997; 78: 321 – 328.
14. Bassett S.E., Brasky K.M., Ianford R.E. Analysis of hepatitis C virus-inoculated chimpanzees reveals unexpected clinical profiles. *J. Virol.* 1998; 72: 2589 – 2599.
15. Pybus O.G., Drummond T., Nakano T., Robertson B.H., Rambaut A. The epidemiology and iatrogenic transmission of hepatitis C virus in Egypt: a Bayesian coalescent approach. *Mol. Biol. Evol.* 2003; 20: 381 – 387.
16. Sarwar M.T., Kausar H., Ljaz B., Ahmad W., Ansar M., Sumrin A. et al. NS4A protein as a marker of HCV history suggests that different HCV genotypes originally evolved from genotype 1b. *Virology J.* 2011; 8: 317 – 335.
17. Simmonds P. The origin of hepatitis C virus. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 2013; 369: 1 – 15.
18. Forbi J.C., Purdy M.A., Campo D.S., Vaughan G., Dimitrova Z.E., Ganova-Raeva L.M. et al. Epidemic history of hepatitis C virus infection in two remote communities in Nigeria, West Africa. *J. Gen. Virol.* 2012; 93: 1410 – 1421.
19. Markov P.V., Penin J., Frost E., Deslandes S., Labb A.C., Pybus O.G. Phylogeography and molecular epidemiology of hepatitis C virus genotype 2 in Africa. *J. Gen. Virol.* 2009; 90: 2086 – 2096.
20. Pybus O.G., Barnes E., Taggart R., Lemey P., Markov, P. V., Rasachak B., Syhavong B. et al. Genetic history of hepatitis C virus in East Asia. *J. Virol.* 2009; 83: 1071 – 1082.
21. Li C., Lu L., Murphy D.G., Negro F., Okamoto H. Origin of hepatitis C virus in Africa as estimated through an evolutionary analysis of the full-length genome of nine subtypes, including the new sequenced 3d and 3e. *J. Gen. Virol.* 2014; 95: 1677 – 1688.
22. Iles J.C., Raghwanji J., Harrison G., Pepin J., Djoko C.F., Tamoufe U. et al. Phylogeography and epidemic history of hepatitis C virus genotype 4 in Africa. *Virology.* 2014; 464 – 465: 233 – 243.
23. Smith D.B., Bukh J., Kuiken K., Muerhoff A.S., Rice C.M., Stapleton J.T. Expanded classification of hepatitis C virus into 7 genotypes and 67 subtypes: updated criteria and genotype assignment web resource. *Hepatology.* 2014; 59: 318 – 327.
24. Stapleton J.T., Fong S., Muerhoff A.S., Bukh J., Simmonds P. The GB viruses: a review and proposal classification of GBV-A, GBV-C (HGV), and GBV-D in genus Pegivirus within family Flaviviridae. *J. Gen. Virol.* 2011; 92: 233 – 246.
25. Kapoor A., Simmonds P., Gerold G., Qaisar K., Jain J.A., Henriquez C. Characterization of a canine homolog of hepatitis C virus. *PNAS (USA).* 2011; 108: 11608 – 11613.
26. Pfaender S., Brown R.J., Pietschmann T., Steinmann E. Natural reservoirs for homologs of hepatitis C virus. *Emerging Microbes and Infection.* 2014; 3: e21.
27. Quan P.-L., Firth C., Conte J. M. Williams S.H., Zambrana-Torrel C.M., Anthony S.J. et al. Bats are a major natural reservoir for hepaciviruses and pegiviruses. *PNAS (USA).* 2013; 110: 8195 – 8199.
28. Chandriani S., Skewes-Cox P., Zhong W., Medina J.L., Giannitti F., Nishiuchi E. et al. Identification of a previously undescribed divergent virus from the Flaviviridae family in an outbreak of equine serum hepatitis. *PNAS (USA).* 2013; 110: E1407 – E1415.
29. Kapoor A., Simmonds P., Scheel T.K., Hjelle B., Cullen J.M., Burbelo P.D. et al. Identification of rodent homologs of hepatitis C virus and pegiviruses. *mBio.* 2013; 4 (2): e00216 – 13.

30. Park Y., Lee J.H., Kim B.S., Kim do Y., Han K.H., Kim H.S. New automated hepatitis C virus (HCV) core antigen assay as an alternative to real-time PCR for HCV RNA quantification. *Clin. Microbiol.* 2010; 48: 2253 – 2256.
31. Лейбман Е.А., Николаева Л.И., Сапронов Г.В., Шестакова Е.И., Самохвалов О.Б., Ковалев А.Г. и др. Значение количественного определения core-антигена в сыворотке крови у детей с гепатитом С. *Детские инфекции.* 2014; 2: 8 – 12.
32. Budkowska A., Kakkanas A., Nerrienet E. et al. Synonymous mutations in the core gene are linked to unusual serological profile in hepatitis C virus infection. *PLoS One.* 2011; 6: e15871.
33. Kalinina O., Norder H., Mukomolov S., Magnius L.O. A natural intergenotypic recombinant of hepatitis C virus identified in St. Petersburg. *J. Virol.* 2002; 76:4034 – 4043.
34. Лейбман Е.А., Николаева Л.И., Самохвалов Е.И., Кюрегян К.К., Исаева О.В., Сапронов Г.В. и др. Особенности течения гепатита С у детей в зависимости от субтипа вируса. *Эпидемиология и Вакцинопрофилактика.* 2015; 1: 19 – 25.
35. Thomas D.L. Global control of hepatitis C: where challenge meets opportunity. 2013; 19: 850 – 858.
36. Alesting E., Arnhold B., Eilard A., Lagging M., Nilsson S., Norkrans G. et al. Core mutation, IL-28B polymorphisms and response to peginterferon/ribavirin treatment in Swedish patients, infected with hepatitis C virus genotype 1 infection. *BMC Infect. Dis.* 2011; 11: 124 – 130.
37. Kwo P.Y., Vinayek R. The therapeutic approaches for hepatitis C virus: protease inhibitors and polymerase inhibitors. *Gut Liver.* 2011; 5: 406 – 417.
38. Enomoto N., Sakuma I., Asahira Y., Kurosaki M., Murakami T., Yamamoto C. et al. Comparison of full-length sequences of interferon-sensitive and resistant hepatitis C virus 1b. Sensitive to interferon is conferred by amino acid substitution in the NS5A region. *J. Clin. Invest.* 1995; 96: 224 – 230.

References

1. Feinstone S., Kapikian A.Z., Purcell R.H., Alter H.J., Holland P. Transfusion-associated hepatitis not due to viral hepatitis type A or B. *N. Engl. J. Med.* 1975; 292: 767 – 70.
2. Prince A. M. Nature of non-A, non-B hepatitis viruses. *Lancet.* 1982; 1: 1181 – 1187.
3. Choo Q.-L., Kuo G., Weiner A.J., Overby L.R., Bradley D.W., Houghton M. Isolation of a cDNA clone derived from blood-borne non-A, non-B viral hepatitis genome. *Sci.* 1989; 244: 359 – 362.
4. Choo Q.-L., Weiner A.J., Overby L.R., Kuo G., Houghton M., Bradley D.W. Hepatitis C virus: the major causative agent of non-A, non-B viral hepatitis. *British Medic. Bulletin.* 1990; 46: 423 – 441.
5. Miller R.H., Purcell R.H. Hepatitis C virus shares amino acid sequence similarity with pestiviruses and flaviviruses as well as members of two plant virus supergroups. *PNAS (USA).* 1990; 87: 2057 – 2061.
6. Choo Q.-L., Richman H., Han J.H., Berger K., Lee C., Dong C. et al. Genetic organization and diversity of the hepatitis C virus. *PNAS (USA).* 1991; 88: 2451 – 2455.
7. Robertson B., Myers G.C., Howard T., Bretton J., Bukh B., Gaschen et al. Classification, nomenclature, and database development for hepatitis C virus (HCV) and related viruses: proposal for standardization. *International Committee on virus taxonomy. Arch. Virol.* 1998; 143: 2493 – 2503.
8. Garry R.F., Dash S. Proteomic computational analyses suggest that hepatitis C virus E1 and pestivirus E2 envelope glycoproteins are truncated class II fusion proteins. *Virology.* 2003; 307: 255 – 265.
9. Bukh J., Miller R.H., Purcell R.H. Genetic heterogeneity of hepatitis C virus: quasispecies and genotypes. *Semin. Liver Dis.* 1995; 15: 41 – 63.
10. Simmonds P., Holmes E.C., Cha T.A., Chan S.W., McOmish F., Irvine B. et al. Classification of hepatitis C virus into six major genotypes and a series of subtypes by phylogenetic analysis of the NS-5 region. *J. Gen. Virol.* 1993; 74: 2391 – 2399.
11. Simmonds P., Bukh J., Combet C., Delyage G., Enomoto N., Feinstone S. et al. Consensus proposal for a unified system of nomenclature of hepatitis C virus genotypes. *Hepatology.* 2005; 42: 962 – 973.
12. Simmonds P. Reconstructing the origins of human hepatitis viruses. *Phil. Trans. R. Soc. Lond.* 2001; 356: 1013 – 1026.
13. Smith D.B., Pathirana S., Davidson F., Lawlor E., Power J., Yap P.L., et al. The origin of hepatitis C virus genotypes. *J. Gen. Virology.* 1997; 78: 321 – 328.
14. Bassett S.E., Brasky K.M., Ianford R.E. Analysis of hepatitis C virus-inoculated chimpanzees reveals unexpected clinical profiles. *J. Virol.* 1998; 72: 2589 – 2599.
15. Pybus O.G., Drummond T., Nakano T., Robertson B.H., Rambaut A. The epidemiology and indigenous transmission of hepatitis C virus in Egypt: a Bayesian coalescent approach. *Mol. Biol. Evol.* 2003; 20: 381 – 387.
16. Sarwar M.T., Kausar H., Ljaz B., Ahmad W., Ansar M., Sumrin A. et al. NS4A protein as a marker of HCV history suggests that different HCV genotypes originally evolved from genotype 1b. *Virology J.* 2011; 8: 317 – 335.
17. Simmonds P. The origin of hepatitis C virus. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 2013; 369: 1 – 15.
18. Forbi J.C., Purdy M.A., Campo D.S., Vaughan G., Dimitrova Z.E., Ganova-Raeva L.M. et al. Epidemic history of hepatitis C virus infection in two remote communities in Nigeria, West Africa. *J. Gen. Virol.* 2012; 93: 1410 – 1421.
19. Markov P.V., Penin J., Frost E., Deslandes S., Labb A.C., Pybus O.G. Phylogeography and molecular epidemiology of hepatitis C virus genotype 2 in Africa. *J. Gen. Virol.* 2009; 90: 2086 – 2096.
20. Pybus O.G., Barnes E., Taggart R., Lemey P., Markov, P. V., Rasachak B., Syhavong B. et al. Genetic history of hepatitis C virus in East Asia. *J. Virol.* 2009; 83: 1071 – 1082.
21. Li C., Lu L., Murphy D.G., Negro F., Okamoto H. Origin of hepatitis C virus in Africa as estimated through an evolutionary analysis of the full-length genome of nine subtypes, including the new sequenced 3d and 3e. *J. Gen. Virol.* 2014; 95: 1677 – 1688.
22. Iles J.C., Raghwanji J., Harrison G., Pepin J., Djoko C.F., Tamoufe U. et al. Phylogeography and epidemic history of hepatitis C virus genotype 4 in Africa. *Virology.* 2014; 464 – 465: 233 – 243.
23. Smith D.B., Bukh J., Kuiken K., Muerhoff A.S., Rice C.M., Stapleton J.T. Expanded classification of hepatitis C virus into 7 genotypes and 67 subtypes: updated criteria and genotype assignment web resource. *Hepatology.* 2014; 59: 318 – 327.
24. Stapleton J.T., Fong S., Muerhoff A.S., Bukh J., Simmonds P. The GBV viruses: a review and proposal classification of GBV-A, GBV-C (HGV), and GBV-D in genus Pegivirus within family Flaviviridae. *J. Gen. Virol.* 2011; 92: 233 – 246.
25. Kapoor A., Simmonds P., Gerold G., Qaisar K., Jain J.A., Henriquez C. Characterization of a canine homolog of hepatitis C virus. *PNAS (USA).* 2011; 108: 11608 – 11613.
26. Pfaender S., Brown R.J., Pietschmann T., Steinmann E. Natural reservoirs for homologs of hepatitis C virus. *Emerging Microbes and Infection.* 2014; 3: e21.
27. Quan P.-L., Firth C., Conte J. M. Williams S.H., Zambrana-Torrel C.M., Anthony S.J. et al. Bats are a major natural reservoir for hepaciviruses and pegiviruses. *PNAS (USA).* 2013; 110: 8195 – 8199.
28. Chandriani S., Skewes-Cox P., Zhong W., Medina J.L., Giannitti F., Nishiuchi E. et al. Identification of a previously undescribed divergent virus from the Flaviviridae family in an outbreak of equine serum hepatitis. *PNAS (USA).* 2013; 110: E1407 – E1415.
29. Kapoor A., Simmonds P., Scheel T.K., Hjelle B., Cullen J.M., Burbelo P.D. et al. Identification of rodent homologs of hepatitis C virus and pegiviruses. *mBio.* 2013; 4(2): e00216 – 13.
30. Park Y., Lee J.H., Kim B.S., Kim do Y., Han K.H., Kim H.S. New automated hepatitis C virus (HCV) core antigen assay as an alternative to real-time PCR for HCV RNA quantification. *Clin. Microbiol.* 2010; 48: 2253 – 2256.
31. Leybman E.A., Nikolaeva L.I., Sapronov G.V. et al. The significance of quantities detection of core antigen in blood serum of children with hepatitis C. *Detskie infektsie.* 2014; 2: 8 – 12 (in Russian).
32. Budkowska A., Kakkanas A., Nerrienet E. et al. Synonymous mutations in the core gene are linked to unusual serological profile in hepatitis C virus infection. *PLoS One.* 2011; 6: e15871.
33. Kalinina O., Norder H., Mukomolov S., Magnius L.O. A natural intergenotypic recombinant of hepatitis C virus identified in St. Petersburg. *J. Virol.* 2002; 76:4034 – 4043.
34. Leybman E.A., Nikolaeva L.I., Samokhvalov E.I., Kyuregayn K.K., Isaeva O.V., Sapronov G.V. et al. Peculiarity of clinical course of hepatitis C in dependence of viral genotypes in children. *Epidemiologiya i vaktsinoprofilaktika.* 2015; 1: 19 – 25 (in Russian).
35. Thomas D.L. Global control of hepatitis C: where challenge meets opportunity. 2013; 19: 850 – 858.
36. Alesting E., Arnhold B., Eilard A., Lagging M., Nilsson S., Norkrans G. et al. Core mutation, IL-28B polymorphisms and response to peginterferon/ribavirin treatment in Swedish patients, infected with hepatitis C virus genotype 1 infection. *BMC Infect. Dis.* 2011; 11: 124 – 130.
37. Kwo P.Y., Vinayek R. The therapeutic approaches for hepatitis C virus: protease inhibitors and polymerase inhibitors. *Gut Liver.* 2011; 5: 406 – 417.
38. Enomoto N., Sakuma I., Asahira Y., Kurosaki M., Murakami T., Yamamoto C. et al. Comparison of full-length sequences of interferon-sensitive and resistant hepatitis C virus 1b. Sensitive to interferon is conferred by amino acid substitution in the NS5A region. *J. Clin. Invest.* 1995; 96: 224 – 230.