

МОЛЕКУЛЯРНА ЕПИДЕМИОЛОГИЯ НА ВИРУСЕН ХЕПАТИТ С

К. Терзиева¹, Д. Шаламанов¹, М. Кунчев², В. Дойчева³, Ц. Дойчинова¹, К. Мекушинов²

¹Катедра „Инфекциозни болести, епидемиология, паразитология и тропическа медицина“,
Медицински университет – Плевен

²Катедра „Военна епидемиология и хигиена“, ВМА – София

³Катедра „Епидемиология“, Медицински университет – София

MOLECULAR EPIDEMIOLOGY OF HEPATITIS C

K. Terzieva¹, D. Shalamanov¹, M. Kunchev², V. Doycheva³, C. Doychinova¹, K. Mecushinov²

¹Department „Infectious Diseases, Epidemiology, Parasitology and Tropical Medicine“,
Medical University – Pleven

²Department of Military Epidemiology and Hygiene, Military Medical Academy – Sofia

³Department of Epidemiology, Medical University – Sofia

Резюме. В обзора е направено обобщение на натрупаните към момента данни от молекулярно-генетичните изследвания върху хепатитен вирус С. Резултатите са интерпретирани от гледна точка на инфекциозната епидемиология. По епидемиологични критерии са разгледани биологичните особености и конкретно генетичните варианти на вируса. Проследени са историческите аспекти на трансфера на този биопатоген в различните географски региони. Представено е съвременното глобално разпространение на основните генетични типове, субтипове и квазитипове. На тази база е обоснована актуалната ендемичност на заболяването вирусен хепатит С. Обсъдени са перспективите за оптимизиране на епидемиологичната теория и превенция на HCV чрез използване на молекулярно-генетични методи. Утвърждаването и разширеното приложение на този вид диагностика ще доведе до максимална конкретност на епидемиологичните проучвания с научноизследователска или практическа насоченост.

Ключови думи: вирусен хепатит С, молекулярна епидемиология, еволюция, разпространение

Адрес за кореспонденция: д-р К. Терзиева, Катедра „Инфекциозни болести, епидемиология, паразитология и тропическа медицина“, Медицински университет, ул. „Св. Климент Охридски“ № 1, 5800 Плевен, тел. 064 884 225, e-mail: kali7@abv.bg

Abstract. The review summarizes current accumulated data from molecular genetic studies of hepatitis virus C. The results are interpreted from the perspective of infectious epidemiology. The biological characteristics and specifically the genetic variants of the virus are examined according to epidemiological criteria. The historical aspects of the transfer of this bio-pathogen in the different geographic regions have been traced. The contemporary global distribution of the major genetic types, subtypes and quasi-species is shown. On this basis, the endemicity of the viral hepatitis C disease is rationalized in its current stage of development. The perspectives for optimization of the epidemiological theory and prevention of HCV through the use of molecular genetic methods have been discussed. The validation and widespread application of such diagnostic approach will lead to utmost tangibility of the epidemiological research with scientific or practical focus.

Key words: hepatitis C virus, molecular epidemiology, evolution, distribution

Address for correspondence: Assist. prof. K. Terzieva, MD, Department of „Infection diseases, epidemiology, parasitology and tropical medicine“, Medical University, 1, Sv. Kliment Ohridski Str., 5800 Pleven, tel. 00359 64 884 225, e-mail: kali7@abv.bg

ВЪВЕДЕНИЕ

Молекулярно-генетичните анализи се утвърдиха като перспективно направление с големи възможности за изясняване на важни аспекти от съвременната инфектология. Натрупаните познания през последните няколко десетилетия от проучвания, при които са използвани методики за генотипизиране, допринесоха за детайлно характеризиране на етиологията и патогенезата и за усъвършенстване на диагностиката и терапията на множество епидемиологично, клинично и социалнозначими инфекции. Най-общо приносите могат да бъдат групирани в четири насоки:

1. Една част са свързани с класически и отдавна познати заболявания, при които с молекулярно-генетични методи е даден отговор на въпроси, натрупани в процеса на дългогодишните научни търсения и приложни практики по изучаването, лечението и профилактиката. Днес медицината разполага с достатъчен набор от такива лабораторни методики, които в много страни вече са утвърдени като рутинни в диагностично-лечебния процес и в провежданите епидемиологични проучвания. Примерите са както за тривиални инфекции (напр. салмонелози и шигелози), така и за рядкосрещаните антракс и туларемия.

2. Прецизната диагностика е от значение за диференциалната диагноза при острите вирусни хепатити. Групата заболявания се характеризира с твърде широк диапазон на причинители, но 95% са предизвикани от петте хепатотропни вируса – HAV, HBV, HDV, HCV и HEV [3]. Напоследък изследователите на проблема обръщат специално внимание върху генотипизирането при вирусен хепатит В, като се търси връзка между генотипа с клиничното проучване, изхода от лечението и прогнозата за пациента [6].

3. Приноси на молекулярната биология върху новооткритите инфекции от втората половина на XX век, сред които е вирусният хепатит С. Предположенията за тази форма на хепатотропна вирусна инфекция датират от 1974 г., но за самостоятелно обособена нозологична единица по етиологичен критерий може да се говори след 1989 г., когато вирусът е открит и идентифициран. Това дава старт на много интензивна научноизследователска дейност, базирана в голямата си част на молекулярно-генетични методични постановки, а резултатите към момента се изразяват в поредица от фундаментални постижения. Новият терапевтичен подход при вирусен хепатит С (ВХС) – безинтерференова терапия, базирана на принципа на протеазните инхибитори, е един от успехите. С внедряването на медикаменти от посочения клас се създават реални предпоставки за поставяне на инфекцията под контрол.

4. Приноси от приложението на молекулярно-генетичните изследвания в областта на палеоепидемиологията и геоепидемиологията. В тази насока генотипизирането на причинителя до нива субтипове и квазитипове от близкото и далечното минало и по територии обогатява вижданията ни за филогенезата на вируса. Оценени в съвременен глобален план – с молекулярно-генетични анализи, се разкриват обхватът и тенденциите на епидемичния процес при ВХС. Независимо от някои условности, генотипните характеристики на причинителя в съчетание с някои други методи могат да се използват и за изготвяне на епидемиологична прогноза на региони и общности.

Към момента молекулярно-генетичните изследвания са приоритетни в провежданите научно-изследователски проучвания, а в реалната медицина са в процес на внедряване.

Целта на настоящата статия е да се представи обобщен анализ върху постиженията на молекулярната биология при проучване разнообразието на генома на хепатитен вирус С. На тази база са проследени еволюцията на HCV и географското разпространение на основните типове и субтипове вируси. Посочени са и хипотезите за пренасяне на биопатогена в нови територии в миналото. Освен това са разгледани приложенията на молекулярно-генетичните методи при изучаване съвременната епидемиология на вирусен хепатит С, както и възможностите за оптимизиране на епидемиологичните проучвания при това заболяване чрез използване на такива методи за научноизследователски и приложни цели.

В публикацията е използван основно **литературният метод**. Търсена е актуална информация от международните информационни системи MEDLINE и SCOPUS за генотипизиране на HCV по епидемиологични критерии. В допълнение е използван и **историко-логическият метод**. Той е прилаган за интерпретиране на исторически данни, свързани с произхода на инфекцията в отделни географски региони и за връзката на типове и субтипове с епидемичната ситуация в момента.

ЕВОЛЮЦИЯ НА ВИРУСА И ИСТОРИЧЕСКИ ТЕНДЕНЦИИ

Посредством анализи върху генома на хепатитния С вирус са натрупани важни данни за еволюцията на този биопатоген и за историческо проследяване на епидемичния процес през изминали периоди.

Вирусът се представя със 7 основни типа (генетични линии с 30-35% различия в местата на

нуклеотидите), поредица от подтипове (субгенотипове) – 67 на брой (характерни за генотипове от 1 до 6), както и с десетки квазитипове (временни варианти). Това огромно разнообразие е обусловено от еволюцията на биопатогена, която е силно динамичен процес и се разглежда освен в дългосрочен, но и в краткосрочен план, т.е. включително и в хода на всяка отделна инфекция, протичаща при заразен индивид. В организмите на болните/носителите се появяват квазитиповете – генетични вариации на внедрения генотип с над 15% различия в подреждането на нуклеотидните бази във веригата на РНК [18, 19]. Разнообразието на хепатитния С вирус е резултат, от една страна, от високата степен грешки, допускани от РНК-зависимата РНК полимераза при репликацията в организма на гостоприемника, и от друга – от натиска, който имунната система осъществява върху вирусната популация [13]. Настъпващите мутации и рекомбинации във вирусния геном осигуряват нови квазиварианти и по този начин немалка част от вирусния товар остава непокрита от синтезираните за целта хомоложни антитела [8]. Изпълзналите се от антиген-антитяло реакцията стандартни и квазивирални частици осигуряват непрекъснато възобновяване на жизнения цикъл на вируса в макроорганизма и с това се обясняват хронифицирането (достигащо до 80% от заразените). Разгледана в глобален аспект, вирусната персистенция поддържа един епидемиологично значим (между 115-140 млн. носители), в голямата си част неразпознат човешки резервоар на инфекция [29]. Освен избягване на имунния отговор, за стабилно закрепване на HCV в резервоара има значение и факторът „кратко време за генерация на нови поколения вируси“ (характерно за цялата група РНК вируси). В съчетание с описаната висока честота на мутации се получава нарастване на генетичните варианти.

Историческите данни за произхода на инфекцията посочват средновековен Китай като една от първите възможни локализации. Ан и кол. описват нова група от 26 варианта на шестия тип на вируса (HCV-6), открита сред аборигени на остров Хайнан. Става въпрос за генетични разновидности на субтиповете HCV-6g и HCV-6w, различаващи се от циркулиращите в момента варианти на тези два субтипа в страната и региона. Различни са били над 13% от нуклеотидните последователности на вирусната РНК. Авторите приемат тези генетични разновидности като предшественици на сега циркулиращите в Азия субтипове 6g и 6w. Присъствието им в съвременни условия се обяснява като резултат от поддържане на изолирана вътрешна циркулация в продължение на шест века в общ-

ност, която е географски, икономически, социално и културно изолирана от останалите части на страната (и съответно от азиатския регион). Тези генетични анализи показват самостоятелна екосистема на HCV, поддържана на китайския остров в продължение на векове [7].

Интегрирането на хепатитния вирус С в населението от различните географски региони е проследено от Дав и кол. [9]. Прилагайки метода *еволюционен анализ*, авторите разглеждат произхода и темповете на глобалното разпространение на вируса. За разпространението в Африка се позовават на изследванията на Волц, Кьоле и Бедфорд, които по данни за филодинамиката на вируса приемат хипотезата, че разпространението в Африка започва преди появата на глобалните пътувания и ерата на модерната медицина [28]. Според Ньюум и кол. общият предшественик на съвременните щамове на HCV-4 е съществувал през XVI век в този континент. Тези изследователи приемат, че генотипи 1 и 4 са дългосрочно ендемични за Камерун, за разлика от генотип 2, който е по-скорошен. Експоненциалното разпространение на трите генотипа между 1920 и 1960 г. се обясняват с масовата кампания срещу трипанозомиаза и масовите ваксинации в Камерун [17].

Важна роля за разпространението на HCV в западноевропейските страни има колонизацията на територии в Азия и Африка. В обзора на Марков и кол. е направен еволюционен анализ на 178 изолата генотип 2 от 189 пациенти в Амстердам, включващи 8 познати към момента субтипа и други 10 неклассифицирани в генетично отношение линии. Направеното съпоставяне със субтиповете HCV-2, изолирани в Индонезия и Суринам (бивши холандски колонии), установява сходство. Авторите посочват също, че трансатлантическата търговия с роби и колониалната политика са движещи сили на глобалното разпространение на HCV-2. Обосновката на това твърдение е хипотеза за корелация на миграцията на разновидности на втория тип HCV до Северна Америка и Карибите с най-интензивното принудително преместване на хора, осъществено през периода 1700-1850 г. За това време от Африка през океана са транспортирани 10,7 млн. души [15].

СЪВРЕМЕННО РАЗПРОСТРАНЕНИЕ НА HCV

Основните биологични характеристики на HCV – висока инфекциозност и дълга латентност, в комбинация със социални фактори – глобализация, миграция и наркомания, както и някои традиционни фактори при кръвнопреносимите инфекции, са формирали т.нар. „географска интеграция“ на вируса. Това поня-

тие за първи път се разглежда в контекста на ВХС от Дав и кол. през 2016 г. [10]. То отразява важни страни от епидемиологичната характеристика на заболяването ВХС. Преди всичко географската интеграция се свързва с пространствената и времевата еволюция на вируса – причинител в световен и регионален аспект. Освен това, разгледана с категориите на епидемиологията, интеграцията следва да се разбира като трайно закрепено присъствие на вируса сред населението на определени географски региони и административни единици. Обстоятелството, че се касае за типична антропонозна инфекция, дава насоченост на епидемиологичните проучвания към търсене само на социално демографски причини, връзки и закономерности (т.нар. *антропоургични фактори, моделиращи демографска ендемичност*), с които да се изяснява епидемичният процес на обследваната територия/район.

Точната оценка на глобалната епидемична ситуация е затруднена по редица причини. Един общ преглед показва, че HCV е неравномерно разпространен, с висока степен на хомогенно засягане на населението в страни от региони с ниски доходи и с преимуществено засягане на определени рискови групи в останалата част от страните, където общото ниво на заболяемостта е сравнително пониско спрямо първата група. Около 60% от всички заразени са в Азия, основно в южните и източните райони. Обхватът варира в широк диапазон: от 0,1% в някои от скандинавските страни до 23% в някои африкански страни. Според честотата на разпространение сред населението ендемичността на държавите се класифицира в тристепенна скала: ниска – до 2,5%, обхващаща Европа, Северна Америка, Австралия и Далечния изток; междинна (2,5-10%), включваща някои средиземноморски страни, Близкия изток и страни от Африка и Южна Америка; и висока – над 10%, в която са държавите Египет, Камерун, Бурунди, Руанда, Габон и Гвинея в Африка, Боливия в Южна Америка и Монголия в Азия [9, 10, 14, 27].

От еволюционна гледна точка някои генотипи са повсеместно разпространени, докато други се срещат само в определени региони. Последното може да се обясни с дълги периоди на ендемично инфектиране, през които не е имало обмен на щамове от други места [20]. Най-широко разпространен в световен мащаб е генотип 1 – на него се дължат 42,6% от инфекциите. Двата подтипа – 1a и 1b, представляват 90% от всичките щамове на този генотип, като съотношението е 1:2. Над една трета от инфектираните с първи генотип са в Източна Азия. Следващият по честота е генотип 3, заемащ дял 30,1%. Среща се основно в Южна Азия и в някои сканди-

навски региони. Подтип 3a, заедно с разгледаните 1a и 1b, са най-широко разпространени и представляват огромното мнозинство от инфекции в западноевропейските страни. Генотипи 2, 4 и 6 (съответно заемащи дялове 9,1%, 8,3% и 5,4%) са отговорни за преобладаващата част от останалите случаи в света [21, 23]. Вторият генотип е преобладаващ в Западна Африка, четвъртият – в Централна и Северна Африка, а шестият е типичен за Югоизточна Азия. На генотип 5 се дължат $\leq 1\%$ от всичките случаи в света. Характерен е за Южна Африка. Новооткритият през 2015 г. генотип 7 е изолиран от конгоански емигрант, намиращ се в Канада [16, 18, 22]. В момента спрямо HCV-7 се осъществяват изследвания за идентифициране на субгенотипи.

В нашата страна, по данни от разширено проучване на П. Теохаров от 2013 г., при 72% се среща субтип 1b, а при 12% е смесена инфекция 1b + 2a [4]. Съществено разпространение започва да показва и субтип 3a [5]. Това разнообразяване е отражение на общата тенденция към увеличаване честотата на 3a субгенотип в страни от Източна и Централна Европа, по-конкретно в Румъния, Полша, Сърбия и Черна гора [25].

Основните генетични типове са самостоятелно обособени клонове на еволюционното дърво на HCV. През последните години са открити варианти, сравнявани с мост (или свързване) между два утвърдени в еволюцията базови генотипа. Те могат да бъдат резултат от настъпила рекомбинация и в случая се означават като RF – рекомбинантна форма. Използвайки еволюционен подход, разширен международен екип проучва времето на поява на уникалния HCVRF 2k/1b. Това е единствената позната към момента разновидност на хепатитния С вирус с интергеномен профил (в тази форма геномът включва елементи от структурата на молекулата на РНК на подтип 2 – геномен регион 5', и от подтип 1 – геномен регион 3') и с установено широко разпространение. Интергеномният вариант е установен първоначално в Санкт Петербург сред венозни наркомани през 2002 г. Впоследствие е доказан извън Русия в редица страни от Европа (Англия, Холандия, Франция, Естония, Кипър) и Азия (Грузия и Азербейджан). Появата на HCV 2k/1b е отнесена към времето 1923-1956 г., когато в бившия Съветски съюз е създадена и разширява дейността си първата Централизирана национална служба за преливане и съхранение на кръв [11, 24]. Според Шуерманк и кол. разпространението на тази генетична форма е недооценено и циркулацията ѝ трябва да се има предвид при определяне на терапевтичната стратегия и епидемиологичната прогноза [26]. В проучване на Закалашвили и кол. от 2016 г. е установено, че

почти 20% от пациентите с ВХС в Грузия са заразени с варианта HCVRF 2k/1b [30].

ПРИЛОЖЕНИЕ НА МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧНИ ИЗСЛЕДВАНИЯ ПРИ ИЗУЧАВАНЕ СЪВРЕМЕННАТА ЕПИДЕМИОЛОГИЯ НА ВИРУСЕН ХЕПАТИТ С

Определянето на молекулярно-генетичните маркери на хепатитен С вирус позволява да се допълни характеристиката на епидемичната ситуация с важни данни. Те се отнасят до трансмисия на вирусен щам между източник на инфекция и новозаразени индивиди, доказване на реинфекция при един и същи пациент, идентифициране на основния и съпътстващите генотипи в даден регион, населено място или административна единица, изясняване връзката на настъпилите заразявания в дадена област или територия с източници на инфекция от други места, ретроспективно проследяване на типовото разнообразие и динамиката на разпространение на вирусните щамове през различни периоди.

Проведените многобройни вирусологични проучвания върху глобалното състояние на биопатогена дават основание за разсъждения от позициите на епидемиологичната парадигма: генотипи 1a, 1b и 3a са силно разпространени в световен мащаб и се класифицират като епидемични щамове. Тези генотипи са се разпространили интензивно по света главно през втората половина на ХХ век, най-вероятно чрез заразна кръв и кръвни продукти и чрез инжектиране на наркотици. Характеризират се с относително по-ниски нива на генетични вариации. За разлика от тази подгрупа, останалите генотипи показват принципно по-голямо типово разнообразие и се срещат в ограничени географски региони. Тези ендемични щамове отразяват дългосрочното предаване на вируса на относително ниски нива в определени човешки популации и са представлявали източници/предшественици на популации за епидемичните щамове [21].

Данните от проучвания, при които са използвани генетични маркери на HCV, могат да имат важно значение за определяне на адекватен подход при етиологичната терапия. Значението се определя от факта, че генотипите са с различна инфекциозност и реагират различно на антивирусните терапии [6, 12]. Последното е много показателно за интерферон-базираното лечение, което вече е в процес на изоставяне, но се отнася също и за внедряването понастоящем нови средства от клас протеазни инхибитори. От тази гледна точка идентификацията на генотипа на HCV служи като маркер за отговор към приложените медикаменти и като индикатор за продължителността на лечението. В ръководството на СЗО от 2016 г. за ВХС експертите препоръчват избора и режимите на прилагане на новите лекарствени препарати при отделните генотипи, уточня-

вайки натрупаните към момента доказателства за ефективността при всеки генотип [29].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Високата геномна хетерогенност на HCV е резултат както от високите темпове на еволюция, от една страна, така и от широкомащабната връзка на вируса с човешката популация. Последната се изразява в дългосрочно присъствие на този причинител в голям брой индивиди във всички страни по света.

Молекулярно-генетичните изследвания позволяват да се направи мост между дисциплините генетика и епидемиология на инфекциозните заболявания, а също и между генетика и инфекциозна клиника. В първия случай се има предвид новобособеното направление „молекулярна епидемиология“. Диагностиката на субклетъчно и генетично ниво осигури на епидемиологичната наука и практика неоспорими доказателства при определяне на причинно-следствената връзка на биологичните и биосоциалните процеси, стоящи в основата на човешката инфекциозна патология [1]. Значението на епидемиологичното проучване, включващо определяне генотипа на HCV като елемент на това ново направление, се свежда до изясняване произхода и редица други важни елементи на епидемичния процес сред проучваната общност. В този смисъл задачите на молекулярната епидемиология за епидемиологичната практика се свеждат до: точна етиологична диагноза, пълно идентифициране на изолираните причинители, максимално пълна характеристика на щамовете, определяне броя на циркулиращите щамове в епидемичното огнище или региона, доказване на повторна инфекция с друг етиологичен вариант, изясняване механизма (или механизмите) за предаване на инфекцията [2]. Това спомага за оптимизиране теорията на епидемиологията, но също така има и приложнопревантивна насоченост. Въпреки че за всяко възникнало епидемично огнище към момента молекулярно-генетичните методики са неприложими, практическата епидемиология определено ще разчита на този вид изследвания при провеждане на неспецифичната профилактика. Чрез периодични обследвания на райони и рискови групи ще се събират данни за генетични маркери и те ще са много важни ориентири до откриването на ваксина, а съответно и до внедряването на радикални превантивни мерки чрез имунизирани. В контекста на теоретичната (условно експериментална) епидемиология, но с възможни ползи и за приложната епидемиология, е моделирането на епидемичния процес по генетични маркери в съчетание с множество подбрани критерии. Пример за такъв подход е изработване на епидемиологична прогноза за географска територия или административна единица.

Във втория случай (взаимовръзки между генетиката на причинителя, терапията на заболяването и епидемиологията) значението на молекулярно-генетичните изследвания (респ. проучвания) е важно по няколко причини:

1. Оптимизираната насочена медикаментозна терапия с протеазни инхибитори ще доведе до намаляване мащабите на общия световен резервоар сред човешката популация, което ще кореспондира с прогресивно намаляване интензитета на епидемичния процес. Вероятно в различните страни това ще протича с различни темпове. В тази връзка е безспорно обстоятелството, че за постигане на високоефективна терапия с новите лекарствени средства от значение е съобразяването на избора на медикамента с генотипната принадлежност на циркулиращия в региона вирусен щам.

2. Прецизната диагностика на HCV инфекцията посредством молекулярни методи за детекция на генома, в съчетание със съвременни конвенционални методики (определяне на индиректните маркери „антитела“ или на класическите чернодробни биохимични показатели „трансаминази“), допринася за възможно най-пълно характеризиране на източниците на инфекция от гледна точка на „епидемиологична опасност“. Имат се предвид най-вече различните комбинации от anti-HCV и HCV RNA, поясняващи клиничната фаза (остра или хронична), в която се намира заразяваният.

3. В пряката връзка с епидемиологията, положително се оценява и висока чувствителност на полимеразноверижната реакция в количествения вариант, достигаща до откриване на 10-50 вирусни единици в 1 ml кръв. Тестовете за мониториране на времето по този начин имат освен клинично, но и съществено епидемиологично значение, защото прецизната диагностика позволява ранно откриване на източниците на инфекция. Това е от особена важност и за леко протичащите форми. За нашата страна този въпрос е актуален, защото от предполагаемите ~ 110 000 души, страдащи от заболяването, вероятно само една малка част от тях (около 10%) знаят за това и се лекуват.

4. Постигането на 100% потвърждение при вирусната диагностика подпомага упражняването на висококачествен контрол над кръвонабирането и кръвопреливането, както и до диспансерното наблюдение на преболедувалите от ВХС.

Библиография

1. Георгиев П. Основи на епидемиологията на инфекциозните заболявания. София, 1998, 26-27.
2. Георгиев П. и кол. Молекулярната епидемиология – сборна научна област между молекулярната биология и традиционната епидемиология. В: Теоретичен анализ на съвременната епидемиология. МФ, София, 2006, 92-98.
3. Страшимиров Д. и кол. Гранични състояния и диференциално-диагностични аспекти при острите вирусни хепатити. Наука Инфектология и паразитология. 2015, 1, 19-24.
4. Теохаров П. Проучвания върху етиологията на ВХ, разпространението и специфичната профилактика на основните хепатотропни и други потенциално хепатотропни вируси в България. Дисертация за НС „Доктор на науките“, София, 2013.
5. Теохаров П., А. Кеворкян. Основни хепатотропни вируси в България. София, 2014, 70-83.
6. Червениякова Т., Страшимиров Д. и кол. Влияние на генотипа на HBV върху клиничното протичане, изхода и прогнозата при остра HBV инфекция. Наука Инфектология и паразитология, 2010, 1, 23-26.
7. An Y. et al. Conservation in China of a novel group of HCV variants dating to six centuries ago. Virology, 2014, 0: 21-25.
8. Cristina J. Genetic diversity and evolution of hepatitis C virus in the Latin American region. J Clin Virol. 2005;34 Suppl 2:S1-7.
9. Daw MA et al. Prevalence of hepatitis C virus antibodies among different populations of relative and attributable risk. Saudi Med J. 2002;23:1356-1360.
10. Daw MA et al. Geographic integration of hepatitis C virus: A global threat. World J Virol. 2016; 5(4): 170-182.
11. De Keukeleire S, Desheemaeker P, Reynders M. Diagnosis of hepatitis C virus genotype 2k/1b needs NS5B sequencing. IJID, 2015, 41, 1-2.
12. Dusheiko G. et al. Hepatitis C virus genotypes: an investigation of type-specific differences in geographic origin and disease. Hepatology, 1994;19(1):13-8.
13. Echeverria N. et al. Hepatitis C virus genetic variability and evolution. World J Hepatol., 2015; 7(6): 831-845.
14. Leung N, Chu C, Tam JS. Viral hepatitis C in Hong Kong. Intervirology, 2006;49(1-2):23-7
15. Markov P. et al. Colonial History and Contemporary Transmission Shape the Genetic Diversity of Hepatitis C Virus Genotype 2 in Amsterdam. J Virol, 2012; 86(14): 7677-7687.
16. Murphy D. G. et al. Hepatitis C virus Genotype 7, a New Genotype Originating from Central Africa. J Clin Microbiol. 2015; 53(3):967-972.
17. Njouom R et al. The hepatitis C virus epidemic in Cameroon: genetic evidence for rapid transmission between 1920 and 1960. Infect Genet Evol, 2007;7(3):361-7.
18. Pond, S. L., S. D. Frost, S. V. Muse. HyPhy: hypothesis testing using phylogenies. Bioinformatics, 2005, 21676-679.
19. Posado, D., K. Crandall. MODELTEST: testing the model of DNA substitution. Bioinformatics, 1998, 14, 817-819.
20. Prescott, L. E. et al. Detection and clinical features of hepatitis C virus type 6 infections in blood donors from Hong Kong. J. Med. Virol. 1996, 50, 168-175.
21. Pybus, O. G., et al. 2001. The epidemic behavior of the hepatitis C virus. Science, 292: 5525, 2323-2325.
22. Pybus, O. G., A. J. Drummond, T. Nakano, B. H. Robertson, and A. Rambaut. 2003. The epidemiology and iatrogenic transmission of hepatitis C virus in Egypt: a Bayesian coalescent approach. Mol. Biol. Evol. 20381-387.
23. Pybus O. et al. Genetic History of Hepatitis C Virus in East Asia. J Virol, 2009; 83(2): 1071-1082.
24. Raghwani J. et al. Origin and Evolution of the Unique Hepatitis C Virus Circulating Recombinant Form 2k/1b. J. Virol. 2012, 86 (4): 2212-2220.
25. Ruta S, Cernescu C. Injecting drug use: A vector for the introduction of new hepatitis C virus genotypes. World J Gastroenterol. 2015, 14; 21(38): 10811-10823
26. Schuermans W. et al. Heads or Tails: Genotyping of Hepatitis C Virus Concerning the 2k/1b Circulating Recombinant Form. Int J Mol Sci, 2016; 17(9): 1384.
27. Transmission of hepatitis C virus. Ann Intern Med. 1990;113:411-412.
28. Volz E, Koelle K, Bedford T. Viral Phylodynamics. PLoS Comput Bio., 2013; 9(3): e1002947.
29. WHO. Guidelines for the screening, care and treatment of persons with chronic hepatitis C infection. 2016.
30. Zakalashvili M. et al. Emergence of Hepatitis C Virus Genotype Recombinant Forms 2k/1b in Georgia. Clin Lab, 2016;62(7):1347-1351.