

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ



УТВЕРЖДАЮ
Первый заместитель Министра
Е.Л.Богдан
«~~2~~» января 2021 г.
Регистрационный № 148-1220

АЛГОРИТМ ДИАГНОСТИКИ ВИРУСОВОГО ГЕПАТИТА Е

(инструкция по применению)

УЧРЕЖДЕНИЕ-РАЗРАБОТЧИК: государственное учреждение
«Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и
микробиологии»

АВТОРЫ: д-р мед. наук, профессор Амвросьева Т.В., канд. биол. наук
Поклонская Н.В., Колтунова Ю.Б., Бельская И.В., канд. мед. наук, доцент
Кишкурно Е.П.

Минск, 2020

**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ**

УТВЕРЖДАЮ
Заместитель министра —
Главный государственный
санитарный врач
Республики Беларусь

_____ А. А. Тарасенко
28.01.2021
Регистрационный № 148-1220

АЛГОРИТМ ДИАГНОСТИКИ ВИРУСНОГО ГЕПАТИТА Е

инструкция по применению

УЧРЕЖДЕНИЕ-РАЗРАБОТЧИК: ГУ «Республиканский научно-практический
центр эпидемиологии и микробиологии»

АВТОРЫ: д-р мед. наук, проф. Т. В. Амвросьева, канд. биол. наук
Н. В. Поклонская, Ю. Б. Колтунова, И. В. Бельская, канд. мед. наук, доц.
Е. П. Кишкурно

Минск 2021

В настоящей инструкции по применению (далее — инструкция) изложен алгоритм диагностики вирусного гепатита Е (ВГЕ), который может быть использован в комплексе медицинских услуг, направленных на диагностику заболеваний и патологических состояний, сопровождающихся симптомами, характерным для ВГЕ.

Инструкция предназначена для врачей-инфекционистов, врачей лабораторной диагностики, врачей-эпидемиологов и иных врачей-специалистов, занимающихся диагностикой и эпидемиологическим надзором за вирусными инфекциями.

ПЕРЕЧЕНЬ НЕОБХОДИМОГО ОБОРУДОВАНИЯ, РЕАКТИВОВ, СРЕДСТВ, ИЗДЕЛИЙ МЕДИЦИНСКОЙ ТЕХНИКИ

Медицинская техника:

1. Амплификатор для полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени.
2. Бокс лабораторный с УФ-лампой для ПЦР-анализа.
3. Термостат твердотельный.
4. ДНК-анализатор.
5. Трансиллюминатор.
6. Камера для горизонтального электрофореза в агарозном геле с источником тока.
7. Микроцентрифуга (1000–14 000 об/мин).
8. Миницентрифуга-вортекс.
9. Центрифуга настольная лабораторная (1000–5000 об/мин).
10. Холодильник (от 2 до 8 °С) с морозильной камерой (от -16 до -20 °С).
11. Дозаторы пипеточные механические переменного объема, комплект (1–10; 2–20; 20–200; 100–1000 мкл).

Изделия медицинского назначения:

1. Пробирки пластиковые стерильные типа «эппендорф» (1,5 мл).
2. Микропробирки для ПЦР, соответствующие типу используемого амплификатора (0,1 и 0,2 мл), стерильные, свободные от нуклеаз.
3. Наконечники полимерные для дозаторов пипеточных с фильтром, стерильные, свободные от нуклеаз.
4. Наборы реагентов для выделения рибонуклеиновой кислоты (РНК) из проб фекалий и сыворотки крови.
5. Набор реагентов для обратной транскрипции.
6. Набор реагентов для очистки дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК) из агарозного геля.
7. Набор реагентов для секвенирования.
8. ПЦР-тест-система для выявления РНК вируса гепатита Е в режиме реального времени.
9. Тест-система иммуноферментная для выявления IgM и IgG к вирусу гепатита Е.

Реактивы:

1. Вода деионизированная, стерильная, свободная от нуклеаз.

2. Перекись водорода 3 %.
3. Олигонуклеотиды синтетические.
4. 2,5x буфер для ПЦР.
5. Термостабильная ДНК-полимераза.
6. Смесь для ОТ-ПЦР.
7. Агароза.
8. Бромистый этидий (10 мкг/мл).

ПОКАЗАНИЯ К ПРИМЕНЕНИЮ

1. Заболевания и патологические состояния, сопровождающиеся симптомами, характерными для ВГЕ.
2. Вирусный гепатит Е.

ПРОТИВОПОКАЗАНИЯ ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ

Отсутствуют.

ОПИСАНИЕ ТЕХНОЛОГИИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ МЕТОДА

Схематично алгоритм диагностики вирусного гепатита Е представлен на рисунке.

1. Отбор проб и пробоподготовка

Взятие биологического материала для исследования осуществляется стерильными одноразовыми инструментами в стерильные одноразовые пластиковые пробирки с закручивающимися крышками или пробирки объемом 1,5 мл с защелкой.

1.1. Сыворотка крови

Взятие крови и получение сыворотки производится рутинным методом.

Образцы сыворотки крови хранятся при температуре 2–8 °С в течение 5 сут, при температуре -20 °С — длительно. Допускается только одноразовое замораживание-оттаивание материала. Для длительного хранения образца его целесообразно разделить на аликвоты по 0,1–0,2 мл в отдельные стерильные пробирки объемом 1,5 мл.

Транспортирование образцов крови производится в специальном термоконтейнере с охлаждающими элементами или в термосе со льдом при температуре 2–8 °С в течение не более 6 ч с момента взятия материала для количественного определения НК, в течение 12 ч — для качественного определения НК. Транспортирование образцов сыворотки крови при температуре 2–8 °С осуществляется в течение не более 3-х сут.

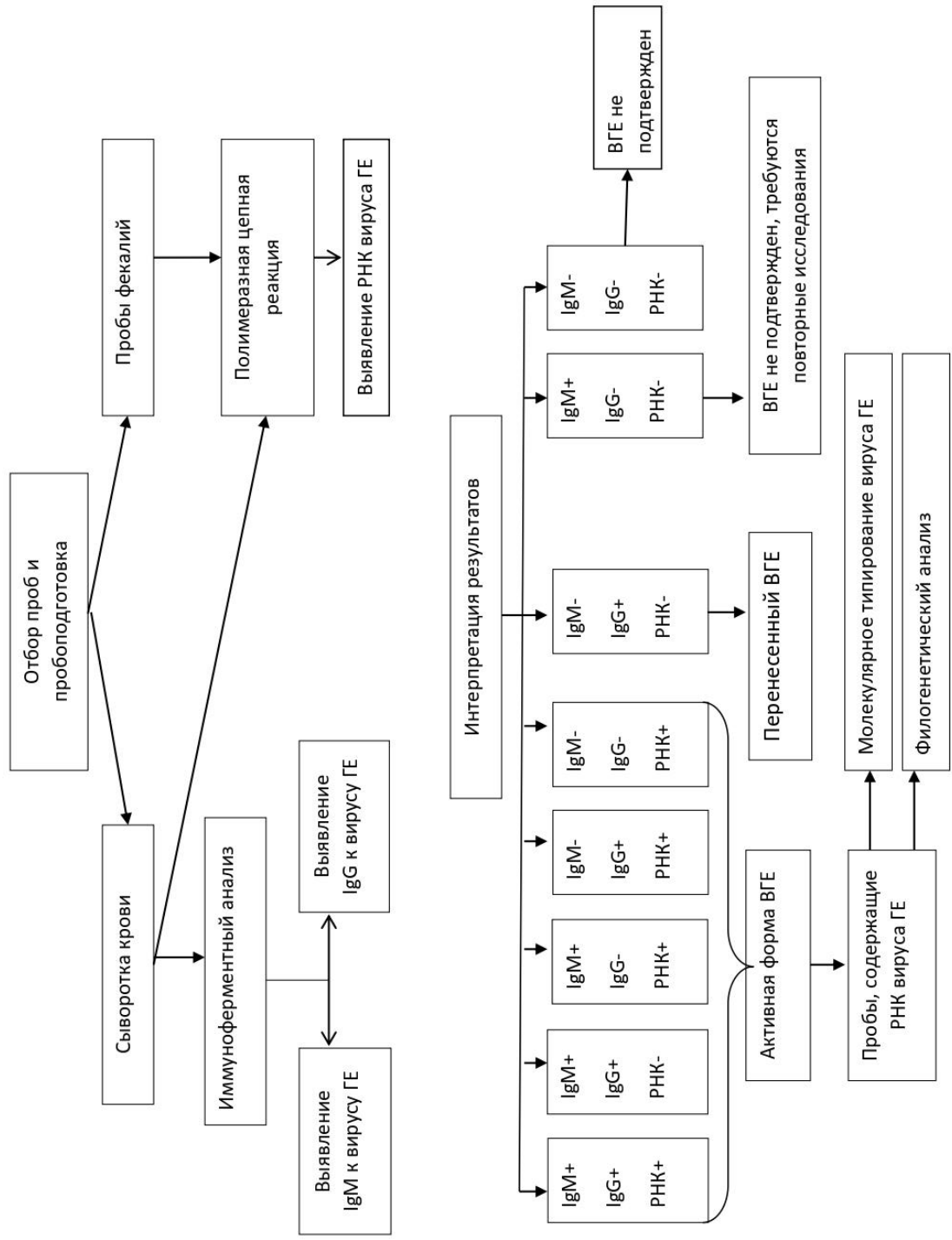


Рисунок – Алгоритм диагностики вирусного гепатита E

1.2. Пробы фекалий

Отбор фекалий производится рутинным методом. Получение 10 % суспензии фекалий: в пробирку объемом 1,5 мл вносится 0,9 мл фосфатного буфера (или стерильного изотонического раствора натрия хлорида) и 0,1 г (0,1 мл) фекалий (пипеткой со стерильным наконечником или стерильным шпателем) и тщательно ресуспендируется на вортексе до образования гомогенной суспензии. Осветление полученной суспензии осуществляется путем центрифугирования при 7000 об/мин в течение 5 мин, затем супернатант отбирается в отдельную одноразовую пробирку.

Образцы хранятся при температуре 2–8 °С в течение 3-х сут, при температуре -20 °С — длительно. Допускается только одноразовое замораживание-оттаивание материала.

Транспортирование осуществляется в специальном термоконтейнере с охлаждающими элементами или в термосе со льдом при температуре 2–8 °С в течение 1-х сут.

2. Иммуноферментный анализ

2.1. Выявление IgM к вирусу гепатита E

Постановка реакции

Проводятся согласно инструкции, прилагаемой к тест-системе.

При получении положительного результата рекомендуется ПЦР.

Учет проводится спектрофотометрически.

Перечень возможных ошибок и пути их устранения:

Описание ошибки	Пути устранения
Показатели оптической плотности положительного и отрицательного контролей не соответствуют пороговым уровням	Усилить контроль за соблюдением температурного и временного режимов прохождения реакции. Убедиться в правильности разведения всех компонентов набора, требующих предварительного разведения. Строгое соответствие фактических условий хранения набора заявленным

2.2. Выявление IgG к вирусу гепатита E

Постановка реакции

Проводится согласно инструкции, прилагаемой к тест-системе.

При получении положительного результата рекомендуется исследование данной пробы методом ПЦР.

Учет проводится спектрофотометрически.

Перечень возможных ошибок и пути их устранения

Описание ошибки	Пути устранения
Показатели оптической плотности положительного и отрицательного контролей не соответствуют пороговым уровням	Усилить контроль за соблюдением температурного и временного режимов прохождения реакции. Убедиться в правильности разведения всех компонентов набора, требующих предварительного разведения. Строгое соответствие фактических условий хранения набора заявленным

3. Полимеразная цепная реакция

3.1. Выявление РНК вируса гепатита Е

Выделение нуклеиновых кислот осуществляется с использованием наборов для выделения нуклеиновых кислот, предназначенных для выделения РНК из соответствующего вида исследуемого материала (фекалии, сыворотка крови) в соответствии с инструкцией производителя.

Реакция обратной транскрипции может проводиться одновременно с реакцией амплификации в одной пробирке — если это указано производителем набора для детекции РНК вируса гепатита Е. В случае, когда в состав набора входят только реактивы для этапа ПЦР, реакция обратной транскрипции осуществляется с использованием отдельного набора согласно прилагаемой к нему инструкции.

ПЦР в режиме реального времени

Детекция РНК вируса гепатита Е осуществляется на амплификаторе с функцией учета реакции в режиме реального времени с использованием коммерческих наборов/тест-систем согласно инструкции производителя.

Учет результата проводится посредством программного обеспечения, совместимого с использованным прибором для проведения реакции и согласно настройкам, приведенным в инструкции к тест-системе.

3.2. Перечень возможных ошибок и пути их устранения

Описание ошибки	Пути устранения
Отсутствие флюоресценции в пробе положительного контроля	Убедиться в наличии маркировки «DNase, RNasefree» на используемых пробирках и наконечниках для дозаторов. Убедиться в отсутствии следов дезинфицирующих средств на рабочих поверхностях, штативах и оборудовании, расположенных в 1 и 2 зонах. Использовать альтернативный набор для выделения РНК/ДНК. Развести исследуемый образец клинического материала в 2–5 раз и повторить процедуру выделения РНК
Наличие флюоресценции в пробе отрицательного контроля	Строго соблюдать пространственное разделение рабочих зон, использовать отдельные наборы посуды, пипеток и отдельные комплекты спецодежды для каждой из рабочих зон. Соблюдать строгий запрет на перенос оборудования, пипеток, расходных материалов, халатов из одной зоны в другую
Отсутствие флюоресценции в исследуемой пробе, по каналу внутреннего контроля реакции	Использовать альтернативный набор для выделения РНК/ДНК. Развести исследуемый образец клинического материала в 2–5 раз и повторить процедуру выделения РНК

4. Интерпретация результатов

Результаты, полученные в ИФА и ПЦР, интерпретируются в совокупности:

Результат ИФА		Результат ПЦР	Интерпретация
IgM	IgG		
Положительный	Положительный	Положительный	Активная форма ВГЕ
Положительный	Положительный	Отрицательный	Активная форма ВГЕ
Положительный	Отрицательный	Положительный	Активная форма ВГЕ
Отрицательный	Положительный	Положительный	Активная форма ВГЕ
Отрицательный	Отрицательный	Положительный	Активная форма ВГЕ
Отрицательный	Положительный	Отрицательный	Ранее перенесенный вирус гепатита E
Положительный	Отрицательный	Отрицательный	ВГЕ не подтвержден, требуются повторные исследования
Отрицательный	Отрицательный	Отрицательный	ВГЕ не подтвержден

Активный ВГЕ подтвержден, если получен:

положительный результат методом ИФА, свидетельствующий о присутствии у пациента IgM и IgG к вирусу гепатита E, и положительный результат ПЦР, свидетельствующий об обнаружении РНК вируса GE в сыворотке крови и/или пробе фекалий;

положительный результат методом ИФА, свидетельствующий о присутствии у пациента IgM и IgG к вирусу гепатита E, но отрицательный результат ПЦР во всех пробах биологического материала;

положительный результат методом ИФА, свидетельствующий о присутствии у пациента IgM или IgG к вирусу гепатита E и положительный результата в ПЦР, свидетельствующий об обнаружении РНК вируса гепатита E в сыворотке крови и/или пробе фекалий;

отрицательный результат методом ИФА, но положительный результата в ПЦР, свидетельствующий об обнаружении РНК вируса гепатита E в сыворотке крови и/или пробе фекалий.

Активный ВГЕ не подтвержден, если получен:

положительный результат методом ИФА, свидетельствующий о присутствии у пациента IgG к вирусу гепатита E, на фоне отрицательного результата методом ИФА, свидетельствующего об отсутствии IgM к вирусу гепатита E и отрицательного результата ПЦР, свидетельствующего об отсутствии РНК вируса гепатита E в сыворотке крови и/или пробе фекалий — в данном случае делается заключение о ранее перенесенном вирусе гепатита E в анамнезе пациента;

положительный результат методом ИФА, свидетельствующий о присутствии у пациента IgM к вирусу гепатита E, но отрицательный результат методом ИФА, свидетельствующий об отсутствии IgG к вирусу гепатита E, и отрицательный результат ПЦР, свидетельствующий об отсутствии РНК вируса гепатита E в сыворотке крови и/или пробе фекалий — в данном случае необходимо повторное исследований по обнаружению IgG к вирусу гепатита E и/или РНК вируса гепатита E;

отрицательный результат методом ИФА, свидетельствующий об отсутствии IgM/IgG к вирусу гепатита E, и отрицательный результат ПЦР, свидетельствующий об отсутствии РНК вируса гепатита E в сыворотке крови и/или пробе фекалий — в данном случае имеет место активный ВГЕ отсутствует.

4. Молекулярное типирование вируса гепатита E

Этап осуществляется на базе ГУ «РНПЦ эпидемиологии и микробиологии». Определение генотипа вируса гепатита E выполняется для проб, давших положительный результат в отношении РНК вируса гепатита E в реакции ПЦР в режиме реального времени.

Молекулярное типирование вируса гепатита E включает в себя следующие этапы:

амплификацию фрагмента гена белка капсида с этапом обратной транскрипции (1–2 раунда в зависимости от количества вируса в пробе);

очистка из геля;

секвенирование и получение последовательности нуклеотидов;

филогенетический анализ полученной нуклеотидной последовательности и последовательностей различных генотипов вируса гепатита E из базы данных GenBank, определение генотипа исследуемого патогена.

4.1. Амплификация фрагмента гена белка капсида с этапом обратной транскрипции

Для накопления фрагмента гена белка капсида используются последовательности праймеров, представленные в таблице 1.

Таблица 1. — Комплекты праймеров для молекулярного типирования вируса гепатита E

Название	Последовательность
HEV_RT1f	AATAAATCATAAGGTGGTTTCTGGGGTGAC
HEV_Zh2r	CCCTTATCCTGCTGAGCATTCTC
HEV_svef	GCACAANACYCATATiATGCC

Приготовление реакционной смеси для 1 раунда — таблица 2.

Таблица 2. — Состав и количество компонентов, необходимых для приготовления ПЦР смеси для 1 раунда в расчете на 1 реакцию

Наименование компонента	Обозначение	Концентрация, пмоль/мкл	Объем на 1 реакцию, мкл	Объем на N реакций, мкл	Конечная концентрация, пмоль/мкл
Специфический праймер (прямой)	HEV_RTf	20	1	1x(N)	0,8
Специфический праймер (обратный)	HEV_Zh2r	20	1	1 x(N)	0,8
Смесь для ОТ-ПЦР	rt-mix	*определяется производителем			1x
Вода деионизированная	H ₂ O	-	до 15	x(N)	-
Объем ПЦР-смеси на 1 реакцию			15		

Количество реакций (N) рассчитывается с учетом количества исследуемых РНК-образцов. Приготовленная на N реакций реакционная смесь разливается в соответствующее количество пробирок для ПЦР по 15 мкл. Затем вносится по 10 мкл РНК-образцов.

Постановка ПЦР осуществляется на амплификаторе. Прибор программируется для выполнения соответствующей программы амплификации (таблица 3).

Таблица 3. — Программа амплификации ДНК (1 раунд)

Этап	Температура, °С	Время	Количество циклов
1	52	40 мин	1
2	95	2 мин	1
3	95	60 с	45
	56	40 с	
	67	40 с	

Приготовление реакционной смеси для 2 раунда — таблица 4.

Таблица 4. — Состав и количество компонентов, необходимых для приготовления ПЦР-смеси для 2 раунда в расчете на 1 реакцию

Наименование компонента	Обозначение	Концентрация, пмоль/мкл	Объем на 1 реакцию, мкл	Объем на N реакций, мкл	Конечная концентрация, пмоль/мкл
Специфический праймер (прямой)	HEV_svef	20	1	1x(N)	0,8
Специфический праймер (обратный)	HEV_Zh2r	20	1	1 x(N)	0,8
2,5x буфер для ПЦР	2,5x буфер	2,5x	10	10x(N)	1x
Вода деионизированная	H ₂ O	-	11,5	11,5x(N)	-
Термостабильная ДНК-полимераза	Полимераза	-	0,5	0,5x(N)	-
Объем ПЦР смеси на 1 реакцию			24		

Количество реакций (N) рассчитывается с учетом количества исследуемых ДНК-образцов. Приготовленная на N реакций реакционная смесь разливается в соответствующее количество пробирок для ПЦР по 24 мкл. Затем вносится по 1 мкл продуктов амплификации 1 раунда.

Постановка ПЦР осуществляется на амплификаторе. Прибор программируется для выполнения соответствующей программы амплификации (таблица 5).

Таблица 5.— Программа амплификации ДНК (2 раунд)

Этап	Температура, °С	Время	Количество циклов
1	95	2 мин	1
2	95	60 с	45
	56	30 с	
	67	40 с	

4.2 Очистка из геля

Результат анализируют с помощью гель-электрофореза при силе тока 60–80 мА в 1,5 % агарозных гелях при окрашивании бромистым этидием (10 мкг/мл). Документирование результатов выполняют при помощи системы документации гелей любого производителя.

После накопления фрагментов ДНК в ПЦР и разделения их в 1,5 % агарозном геле фрагменты вырезают из геля с использованием стерильных инструментов и производят очистку ДНК с помощью коммерческого набора, согласно инструкции по применению.

4.3. Секвенирование и получение последовательности нуклеотидов

Реакция термоциклического секвенирования осуществляется с применением готового коммерческого набора, подходящего для используемого секвенатора согласно инструкции по применению.

Выбор специфического праймера зависит от того, с какими праймерами был накоплен анализируемый ПЦР-продукт, прямой и обратный праймеры вносят в разные пробирки. Таким образом, количество реакций (N) рассчитывается с учетом количества исследуемых ДНК-образцов (x2). Приготовленная на N реакций реакционная смесь разливается в соответствующее количество пробирок для ПЦР. Затем вносится очищенный из геля ПЦР-продукт.

Постановка реакции термоциклического секвенирования осуществляется на амплификаторе.

4.3.1. Очистка пробы после реакции термоциклического секвенирования осуществляется с применением коммерческого набора для очистки согласно инструкции производителя.

4.3.2. ДНК-анализ проводится с использованием ДНК-анализатора согласно соответствующим инструкциям по использованию и применению для этих целей.

4.4. Перечень возможных ошибок и пути их устранения

Описание ошибки	Пути устранения
Отсутствие пиков на хроматограмме ДНК-анализатора после секвенирования	Образец был потерян на этапе очистки пробы после секвенирующей реакции — провести этапы, начиная с п. 4.3.1 заново, визуально контролировать наличие «бляшки» ДНК в ходе ее очистки после реакции термоциклического секвенирования
Низкие пики на хроматограмме ДНК-анализатора после секвенирования.	Увеличить количество ДНК-матрицы, добавляемое в реакцию термоциклического секвенирования. Увеличить количество циклов реакции термоциклического секвенирования.

Нуклеотидная последовательность содержит много ошибок	Произвести повторную очистку ДНК-матрицы для секвенирования (п. 4.2). Не использовать для секвенирования ДЭПК-обработанную воду
Наложение пиков на хроматограмме ДНК-анализатора после секвенирования. Нуклеотидная последовательность не распознается	Развести образец ДНК после очистки из геля и повторить этап 4.3 заново. Повторно провести все этапы, начиная с п. 4.1, обращать внимание на отсутствие неспецифических полос ДНК и «шмеров» на этапе 4.2. Повысить температуру отжига при проведении реакции термоциклического секвенирования на 3–5 °С

4.5. Первичная обработка нуклеотидных последовательностей

Первым этапом является оценка качества полученной нуклеотидной последовательности. Оценивают длину нуклеотидной последовательности и количество нераспознанных нуклеотидов. Последовательность, содержащая 0,5–1 % нераспознанных нуклеотидов, может рассматриваться как оптимальный результат секвенирования. Последовательность, содержащая 10 % и более нераспознанных нуклеотидов, не может быть использована для анализа. В этом случае осуществляется повторное секвенирование пробы ДНК.

Для каждой пробы получают 2 нуклеотидные последовательности — с прямого и обратного праймеров. Это обусловлено возможностью возникновения ошибок в процессе секвенирования. Для устранения этих ошибок 2 нуклеотидные последовательности, полученные для каждой пробы, сравнивают между собой и с референсной последовательностью вируса гепатита Е.

Сравнение нуклеотидных последовательностей между собой и филогенетический анализ осуществляют с помощью соответствующих компьютерных программ, предназначенных для этой цели и доступных для свободного использования.

После того, как проведена первичная оценка качества нуклеотидной последовательности и установлено, что она содержит менее 10 % нераспознанных нуклеотидов, осуществляют поиск и сравнение ее с нуклеотидными последовательностями, представленными в международной базе данных GenBank.

Нуклеотидную последовательность вируса гепатита Е из GenBank, обладающую максимальной долей сходства с исследуемыми, сохраняют на компьютер и используют в последующем в качестве референсной.

По результатам поиска можно сделать предварительный вывод о генотипе вируса, содержащегося в исследуемой пробе. Наиболее сходные нуклеотидные последовательности, найденные в базе данных, будут принадлежать к тому же генотипу, что и исследуемая последовательность. Отрицательный результат поиска в базе данных GenBank свидетельствует о том, что нуклеотидная последовательность не принадлежит вирусу гепатита Е, а получена в результате неспецифического накопления и является артефактом реакции. В таком случае следует повторить все этапы, начиная с накопления фрагмента ДНК (п. 4.1).

После предварительной оценки качества нуклеотидных последовательностей и установления их типовой принадлежности, проводят их

обработку с целью удаления нераспознанных нуклеотидов и ошибок. Для этого нуклеотидные последовательности, полученные для исследуемой пробы с прямого и обратного праймеров, а также референсную нуклеотидную последовательность вируса гепатита E из базы данных GenBank выравнивают между собой и с последовательностью прототипного штамма вируса. Выравнивание 2-х исследуемых последовательностей позволит скорректировать нераспознанные нуклеотиды, а использование дополнительно последовательности прототипного штамма — выявить и скорректировать ошибки секвенирования, приводящие к сдвигу рамки («делеции» и «вставки» единичного нуклеотида).

5. Филогенетический анализ

Для построения филогенетического дерева (филограммы) необходимо:

выбрать анализируемые нуклеотидные последовательности (полученные в результате секвенирования исследуемых изолятов);

загрузить из базы данных GenBank нуклеотидные последовательности прототипных штаммов различных генотипов вируса гепатита E;

выровнять все анализируемые последовательности между собой, после выравнивания удалить все «выступающие края» так, чтобы все анализируемые последовательности были одинаковой длины (в противном случае расчет генетических расстояний будет некорректным);

выбрать модель эволюции для оценки генетических (эволюционных) расстояний;

выбрать метод филогенетической реконструкции;

произвести реконструкцию и статистически оценить достоверность формирования отдельных групп в составе полученной филограммы.

Выбор модели эволюции осуществляется с использованием предназначенных для этого компьютерных программ, в основе которых лежит метод максимального правдоподобия (maximum likelihood).

Метод филогенетической реконструкции выбирают на основе размера анализируемого блока данных. Если проводят филогенетический анализ значительной выборки — более 50 нуклеотидных последовательностей длиной более 1000 нуклеотидов, целесообразно использовать метод присоединения ближайшего соседа (Nearest Neighbor Joining), как требующий минимальных компьютерных ресурсов и времени. Если используют выборку меньшего размера, или значения статистической достоверности формирования отдельных кластеров составляют менее 70 %, филогенетическую реконструкцию проводят методом максимального правдоподобия (Maximum Likelihood).

Статистическую достоверность группирования нуклеотидных последовательностей в составе отдельных кластеров на филогенетическом древе оценивают методом бутстреп-анализа. Размер анализируемой выборки псевдореplikатов — 1000.

Генотипирование исследуемых нуклеотидных последовательностей вируса гепатита E производят на основании анализа полученного филогенетического древа. Исследуемая нуклеотидная последовательность принадлежит к тому же

генотипу вируса гепатита E, что и прототипный штамм вируса, формирующий с ней общий кластер с достоверностью (значение бутстреп-анализа) не менее 70 %.

Полученный результат генотипирования используют при эпидемиологическом анализе вирусного гепатита.