

# МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОЛОГИЯ ВИРУСОВ ГЕПАТИТА В И С В РУСПУБЛИКЕ БЕЛАРУСЬ

**К.б.н. Елена Гасич**

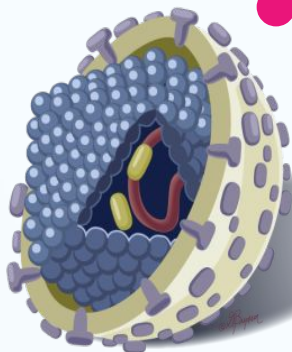
*Республиканский научно-практический  
центр эпидемиологии и микробиологии*

**Гродно, 2012**



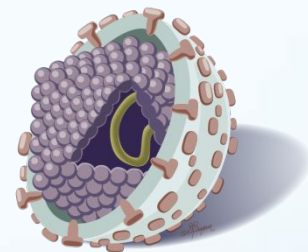
- **Вирусные гепатиты с парентеральным механизмом передачи возбудителей и, прежде всего, вирусные гепатиты В и С занимают одно из ведущих мест в инфекционной патологии человека и являются важнейшей проблемой мирового здравоохранения. Такая оценка этих гепатитов определяется повсеместным распространением, широким спектром клинических проявлений, сложностью структуры эпидемического процесса, множественностью естественных и искусственных путей передачи возбудителей, высокой вероятностью хронических поражений печени и внепеченочных поражений.**
- **Гепатит В — глобально распространенная вирусная инфекция. Ежегодно в мире регистрируется около 50 млн. больных только с острой ВГВ-инфекцией. По экспертным оценкам, в мире инфицировано вирусом гепатита В более 2,0 млрд. человек, а число хронических носителей достигает 400 млн. человек.**
- **По данным ВОЗ вирусом гепатита С в мире инфицировано около 3% населения (170 млн. человек). Фактически, в мире наблюдается пандемия вируса гепатита С, которая по своим масштабам в 5 раз превышает распространение ВИЧ-инфекции.**

- Вирусы гепатитов В и С характеризуются выраженным хроническим потенциалом



- У 5-15% больных острый инфекционный процесс, вызванный ВГВ, трансформируется в хронический; у детей, рожденных инфицированными матерями, риск развития хронической инфекции может достигать 90%. Хронический гепатит В приводит к развитию цирроза печени и гепатокарциномы у 25-30% инфицированных лиц; в эндемичных районах около 80% первичных раков печени связывают с ВГВ.

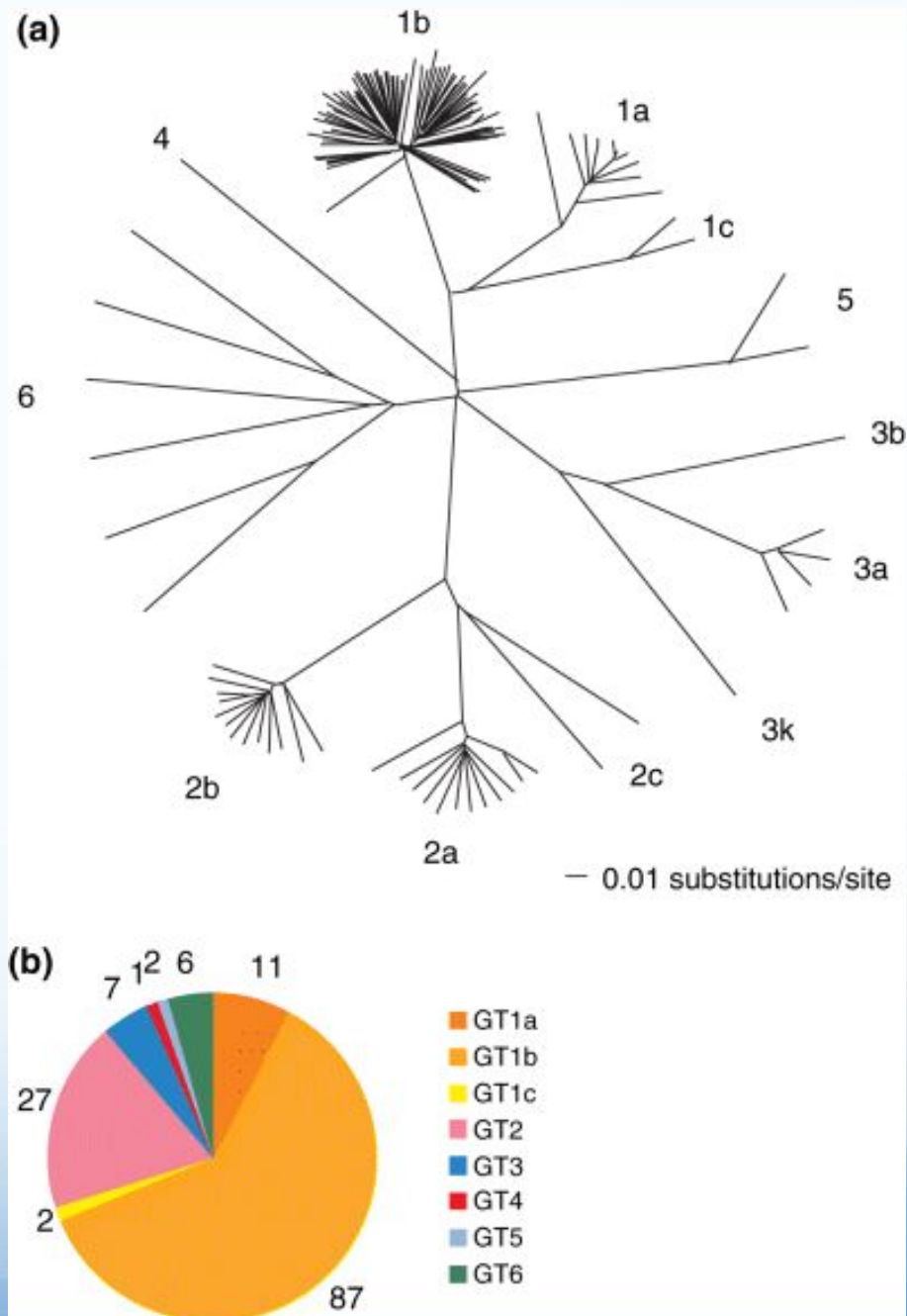
- Многолетняя персистенция ВГС приводит к развитию хронического гепатита у 70-85% больных, у которых в 20-30% случаев наблюдается формирование ЦП с высоким риском прогрессирования в ГЦК (до 10%).



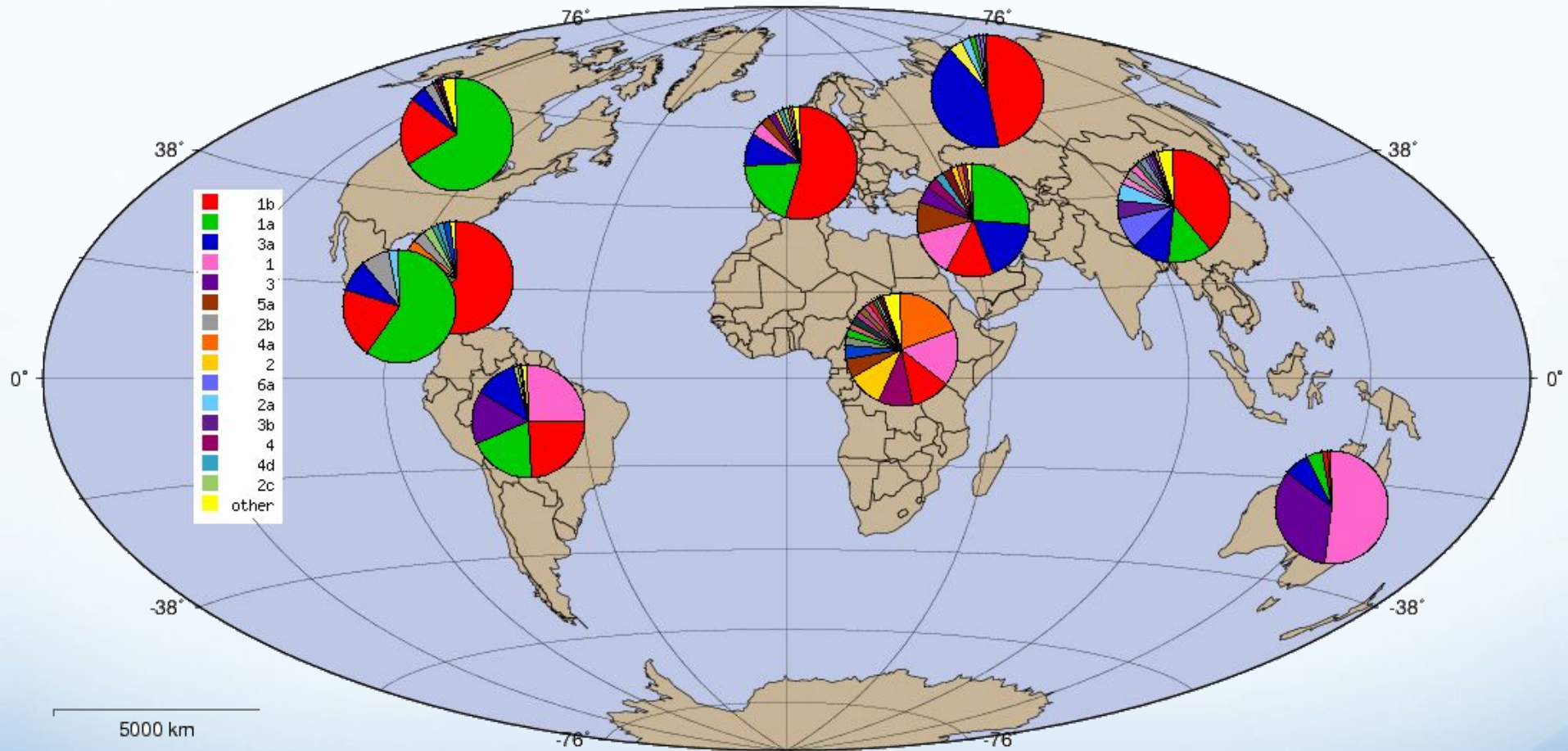
- По данным ВОЗ в ближайшие 10-20 лет **хронический гепатит С** станет основной причиной пересадки печени

# ВГС. Генотипы

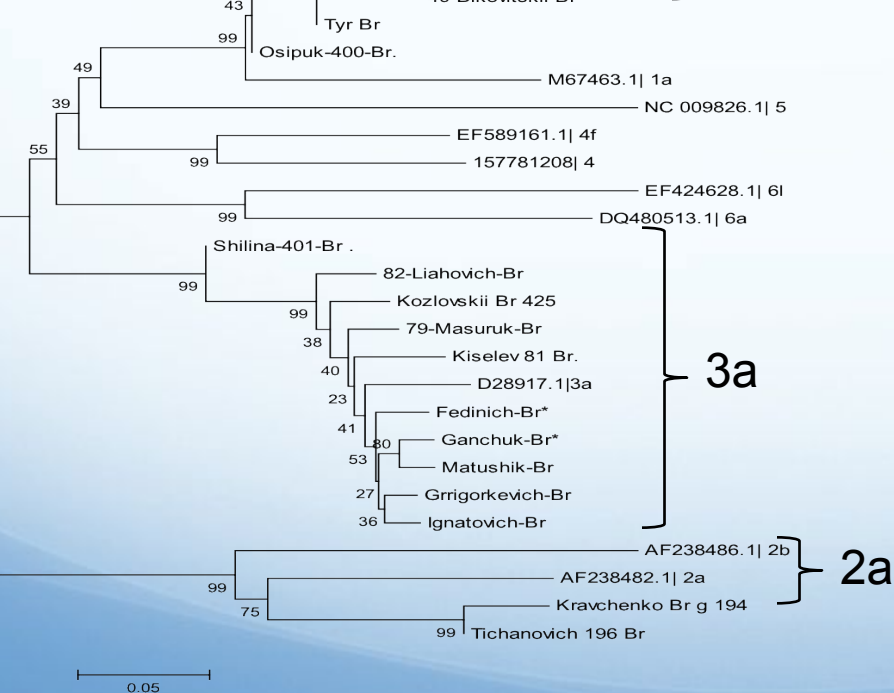
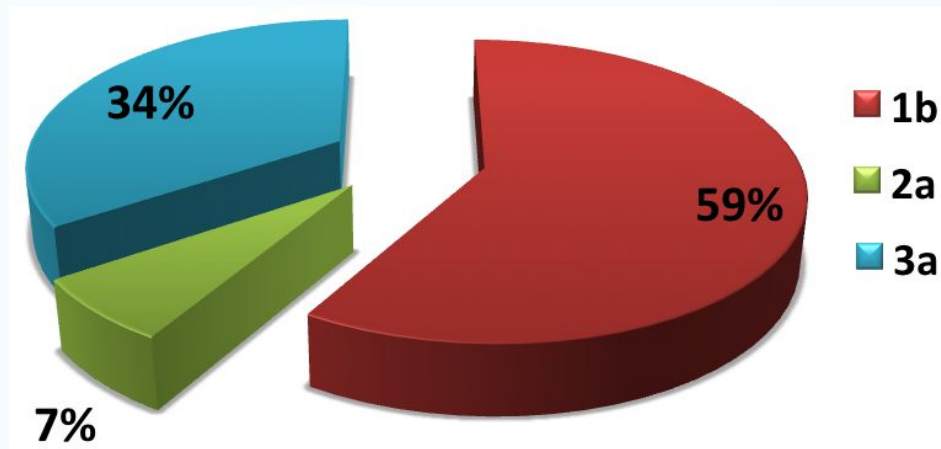
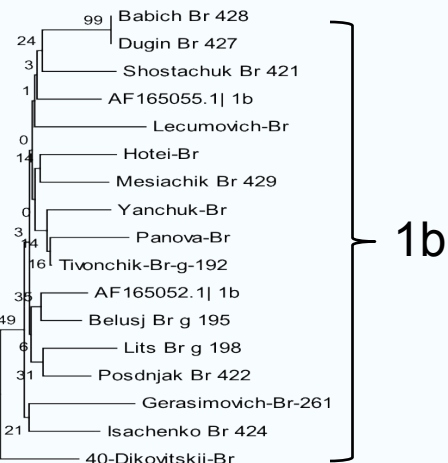
а – филогенетическое распределение генотипов  
б – частота выявления различных генотипов в мире



# ВГС. Распространенность генотипов в мире

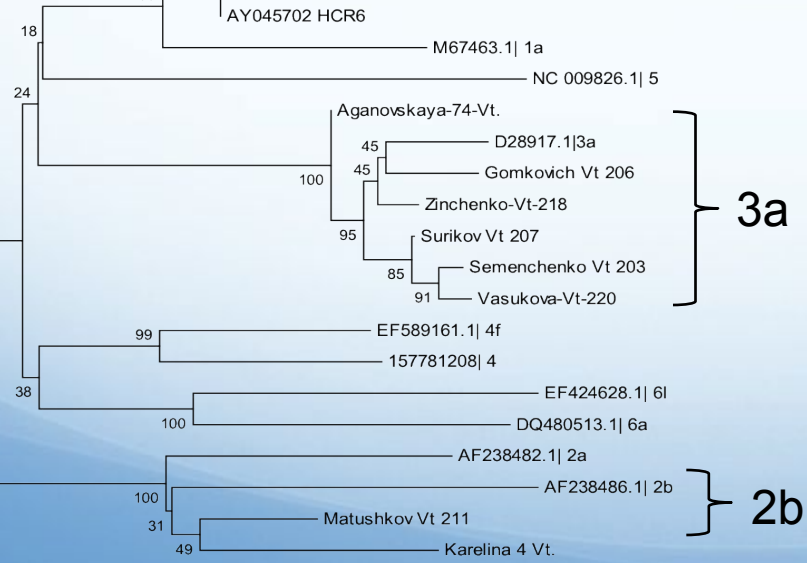
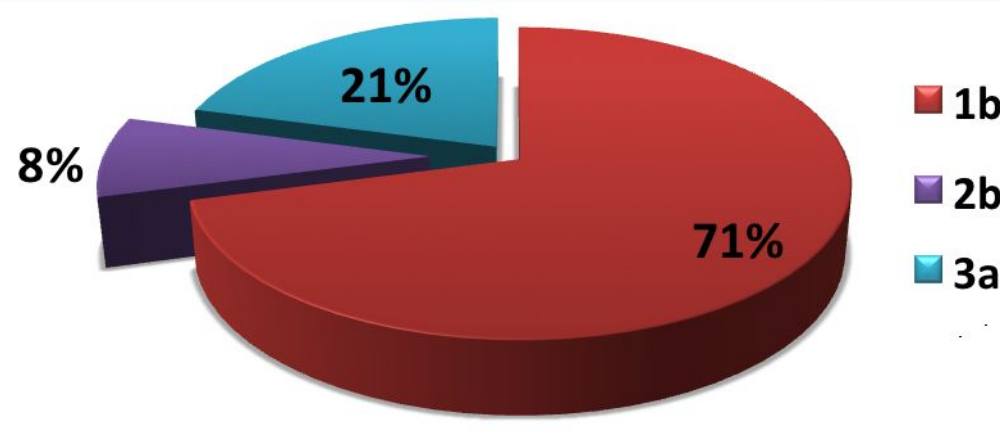
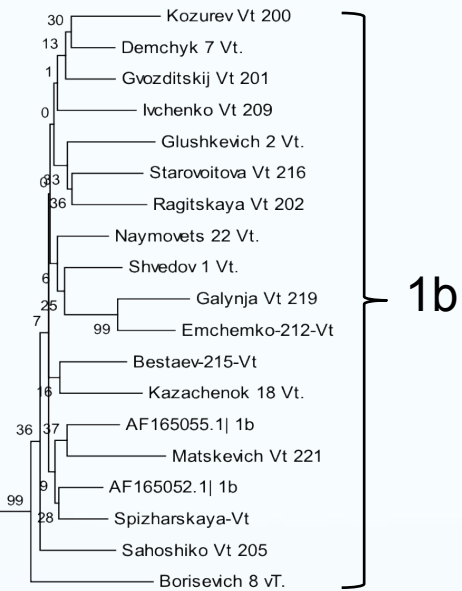


# ВГС. Филогенетический анализ нуклеотидных последовательностей. Брест и область



	генотип ВГС				
	1a	1b	2a	2b	3a
ВИЧ -		17	2		8
ВИЧ +					2
Всего	0	17	2	0	10

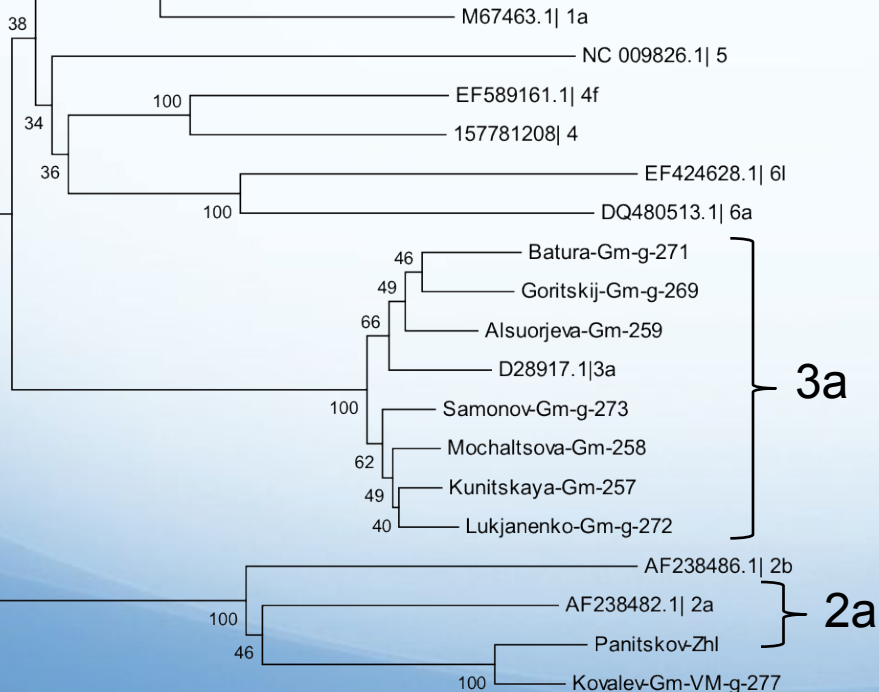
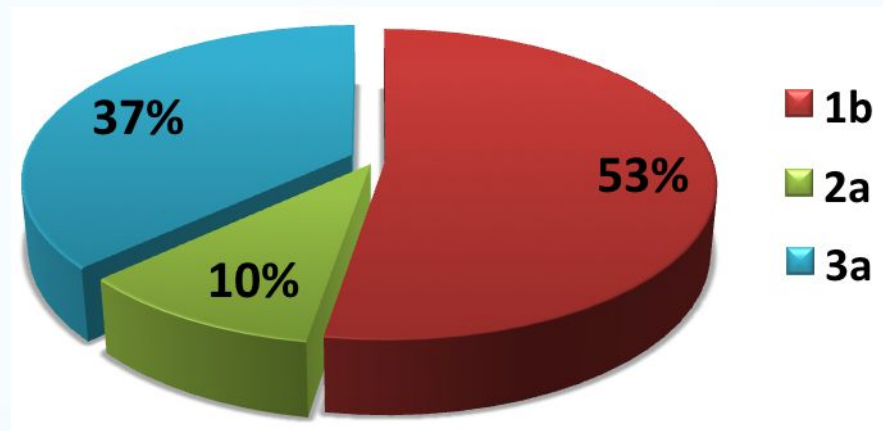
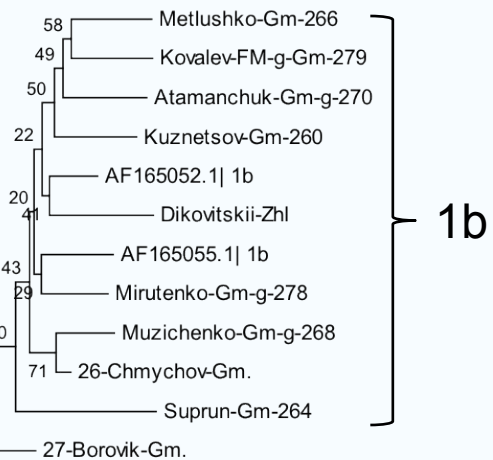
# ВГС. Филогенетический анализ нуклеотидных последовательностей. Витебск и область



	Генотип ВГС				
	1a	1b	2a	2b	3a
<b>ВИЧ -</b>		17		2	6
<b>Всего</b>	0	17	0	2	6

0,02

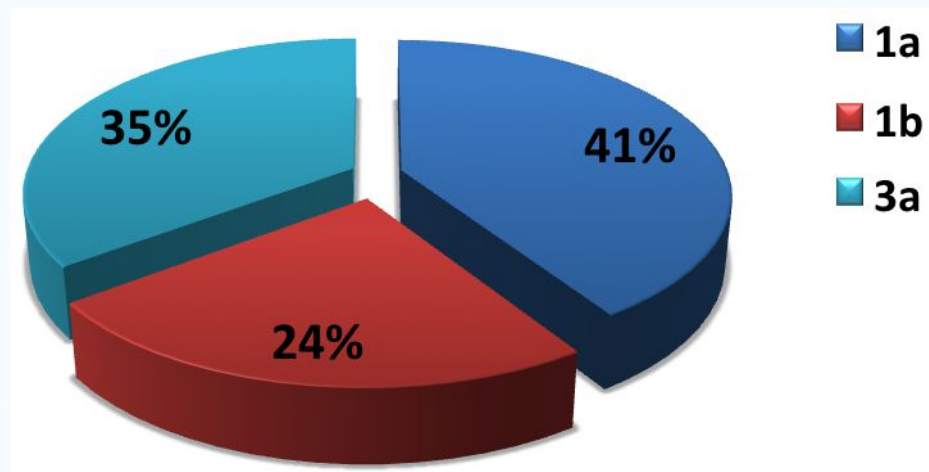
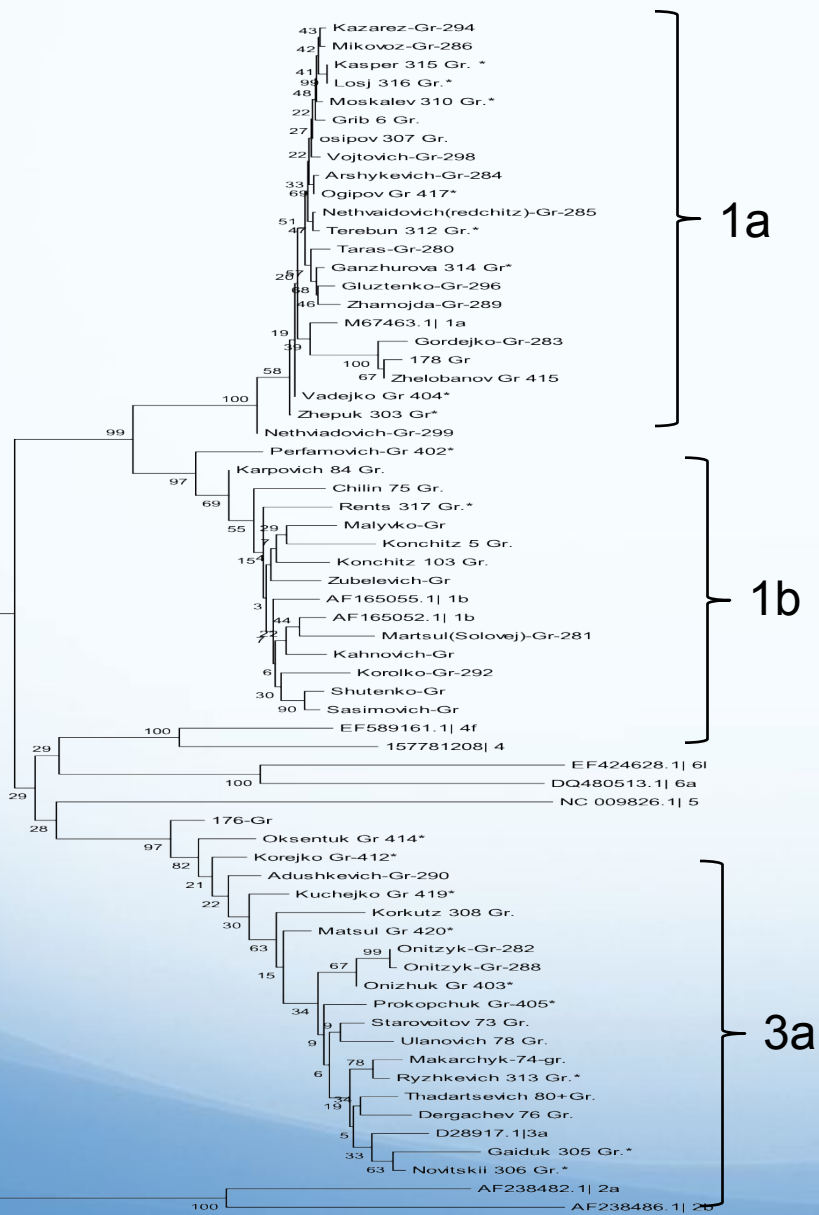
# ВГС. Филогенетический анализ нуклеотидных последовательностей. Гомель и область



	Генотип ВГС				
	1a	1b	2a	2b	3a
<b>ВИЧ –</b>		9	1		8
<b>ВГВ</b>			1		
<b>Всего</b>	0	9	2	0	8

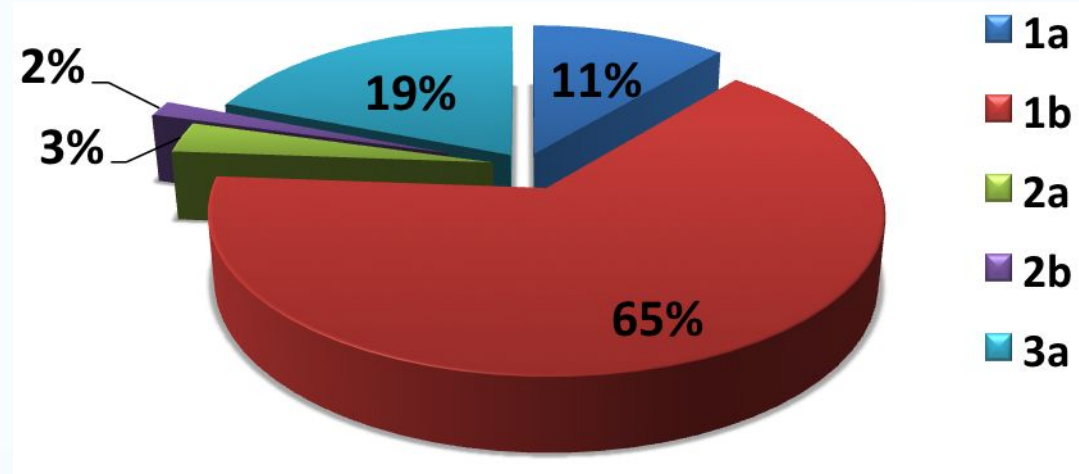
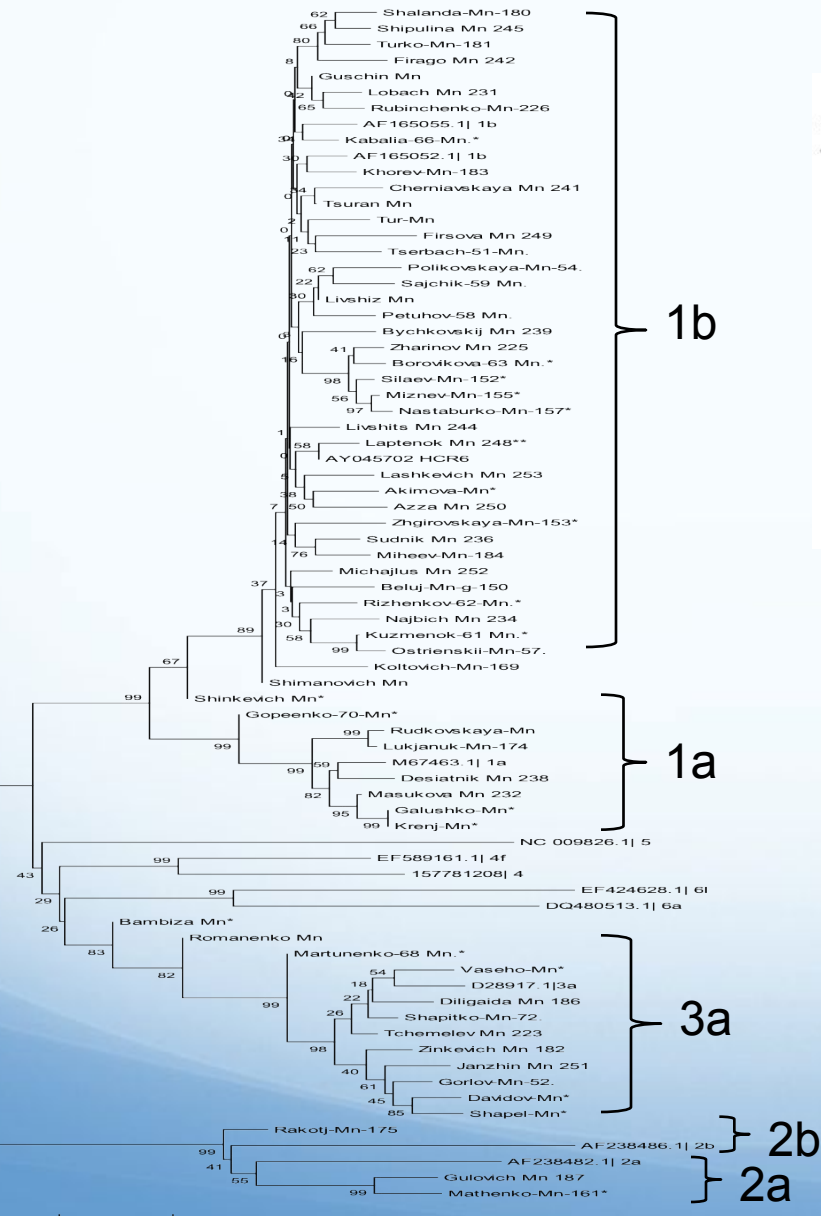


# ВГС. Филогенетический анализ нуклеотидных последовательностей. Гродно и область



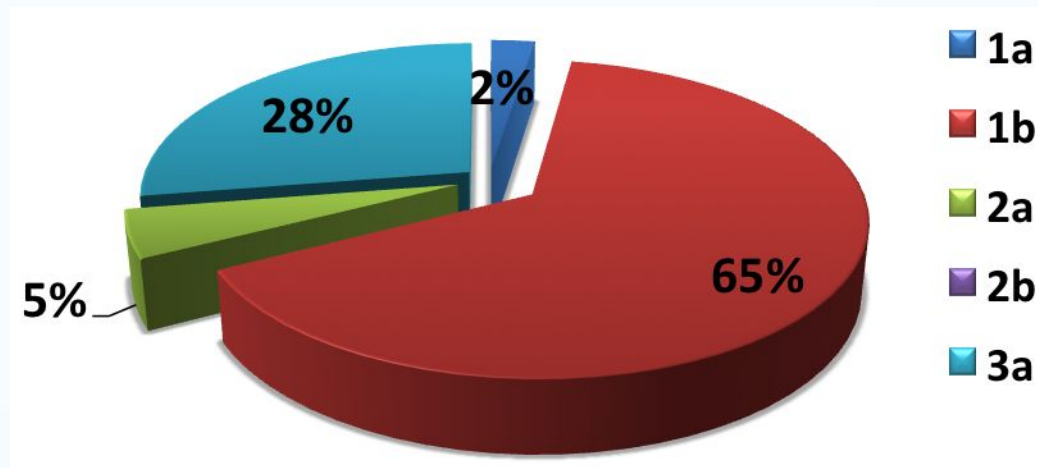
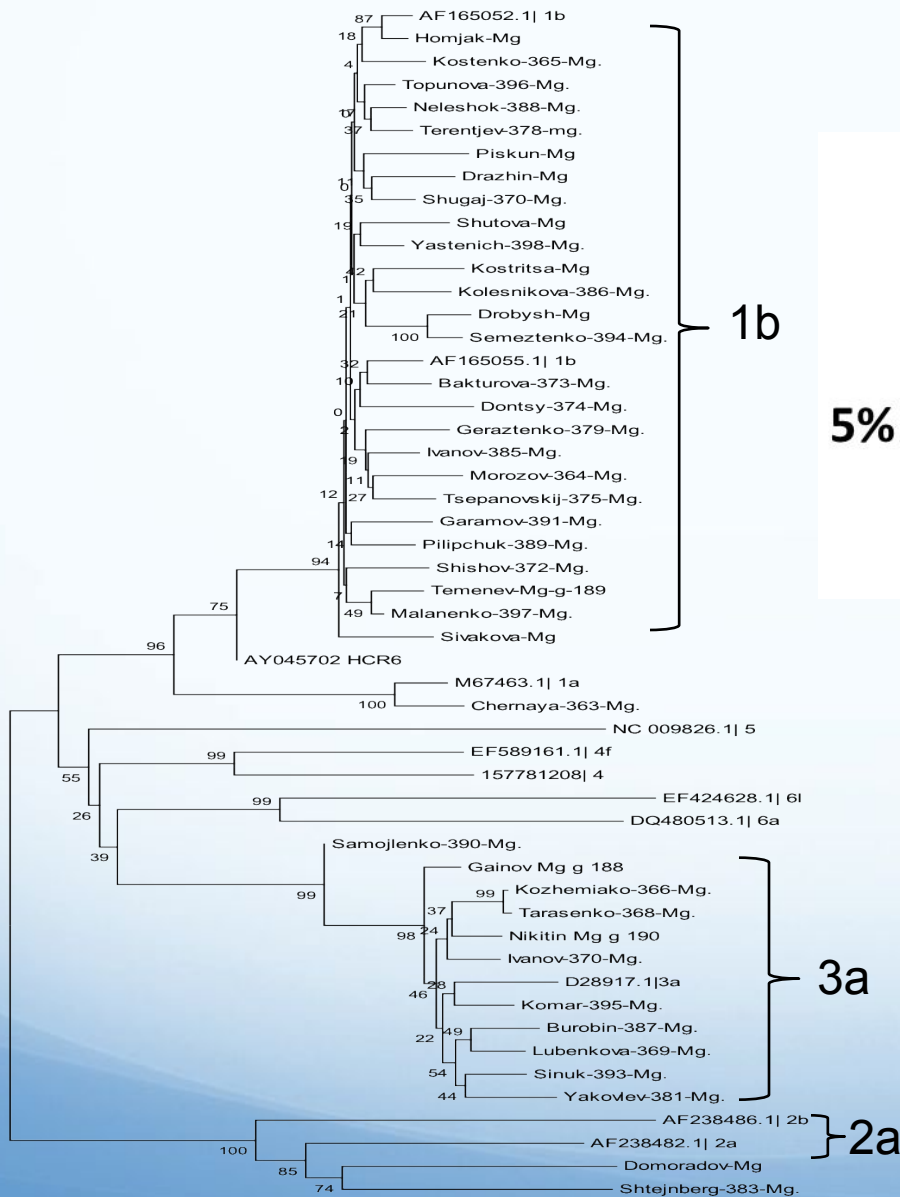
	Генотип ВГС				
	1a	1b	2a	2b	3a
<b>ВИЧ -</b>	9	10			9
<b>ВИЧ +</b>	13	3			10
<b>Всего</b>	22	13	0	0	19

# ВГС. Филогенетический анализ нуклеотидных последовательностей. Минск и область



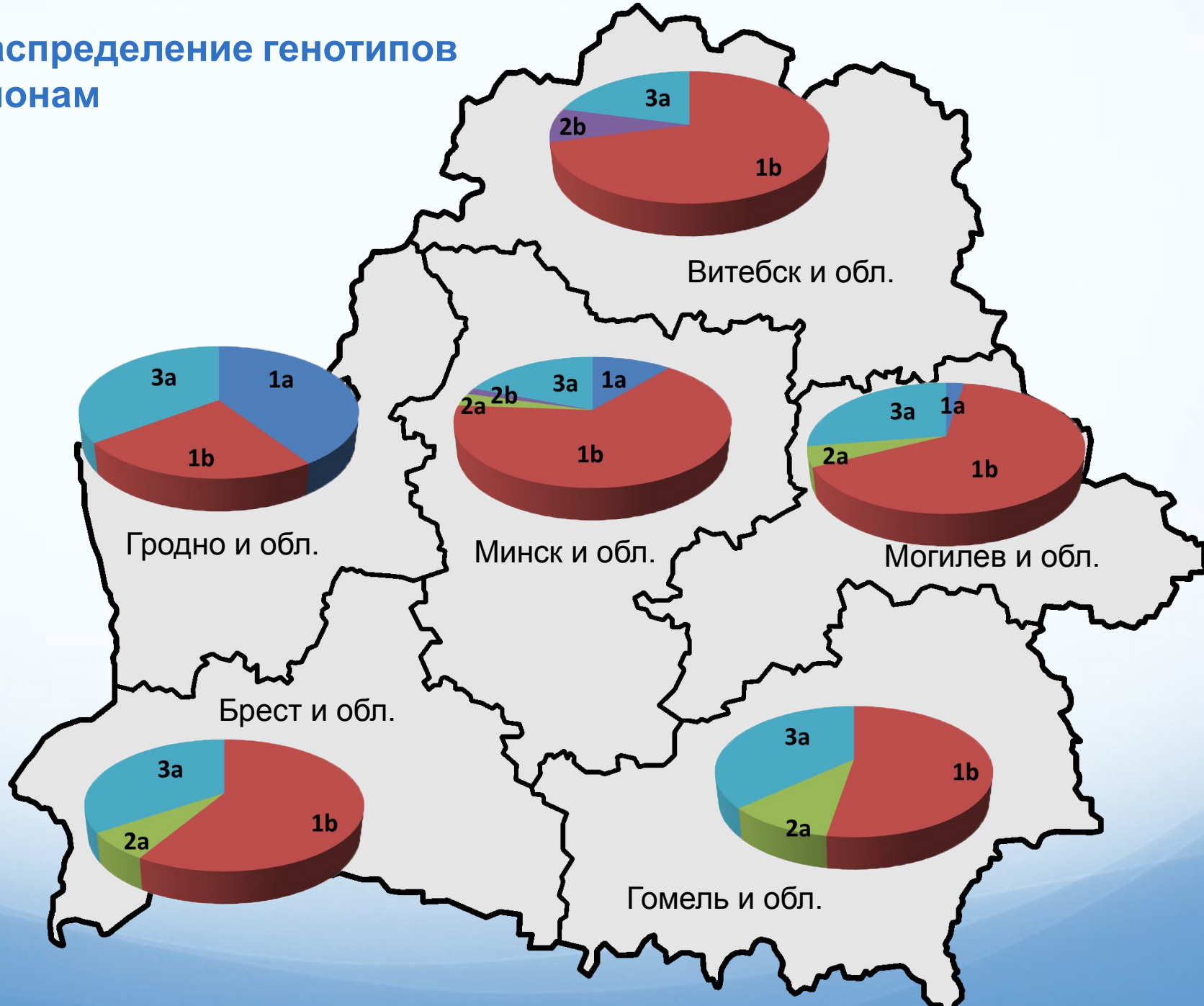
	Генотип ВГС				
	1a	1b	2a	2b	3a
<b>ВИЧ -</b>	4	30	1	1	7
<b>ВИЧ +</b>	3	11	1		5
<b>ВГВ +</b>		1			
<b>Всего</b>	7	41	2	1	12

# ВГС. Филогенетический анализ нуклеотидных последовательностей. Могилев и область

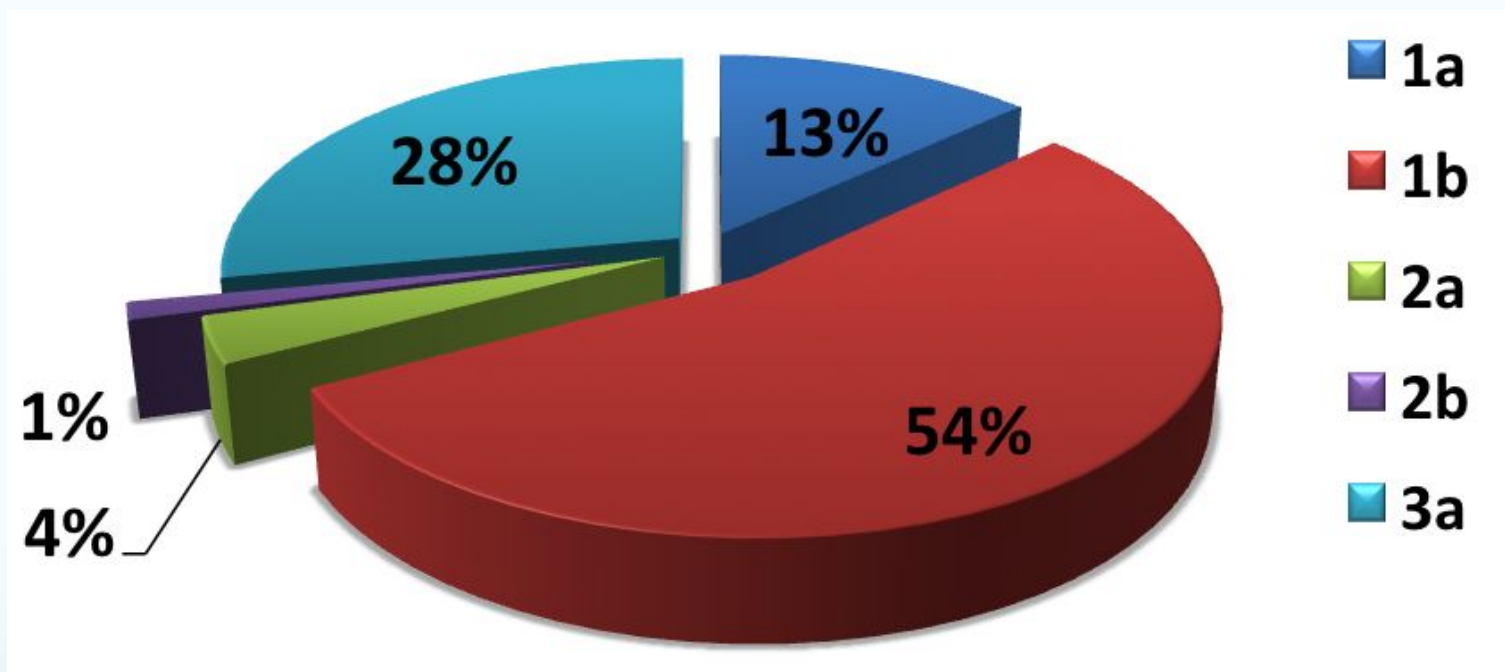


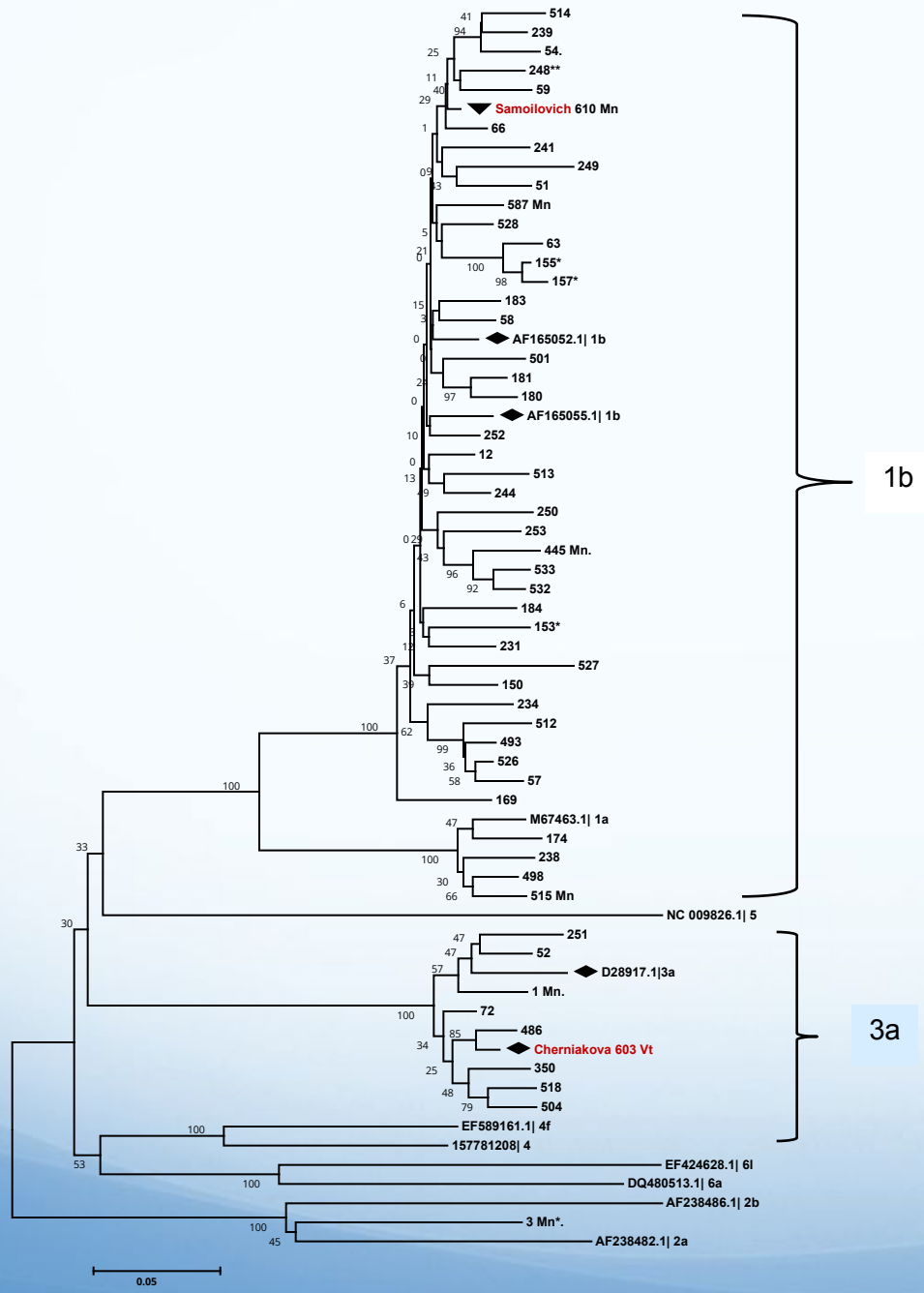
	Генотип ВГС				
	1a	1b	2a	2b	3a
<b>ВИЧ -</b>	1	25	2		11
<b>ВИЧ +</b>		1			
<b>Всего</b>	1	26	2	0	11

# ВГС: распределение генотипов по регионам



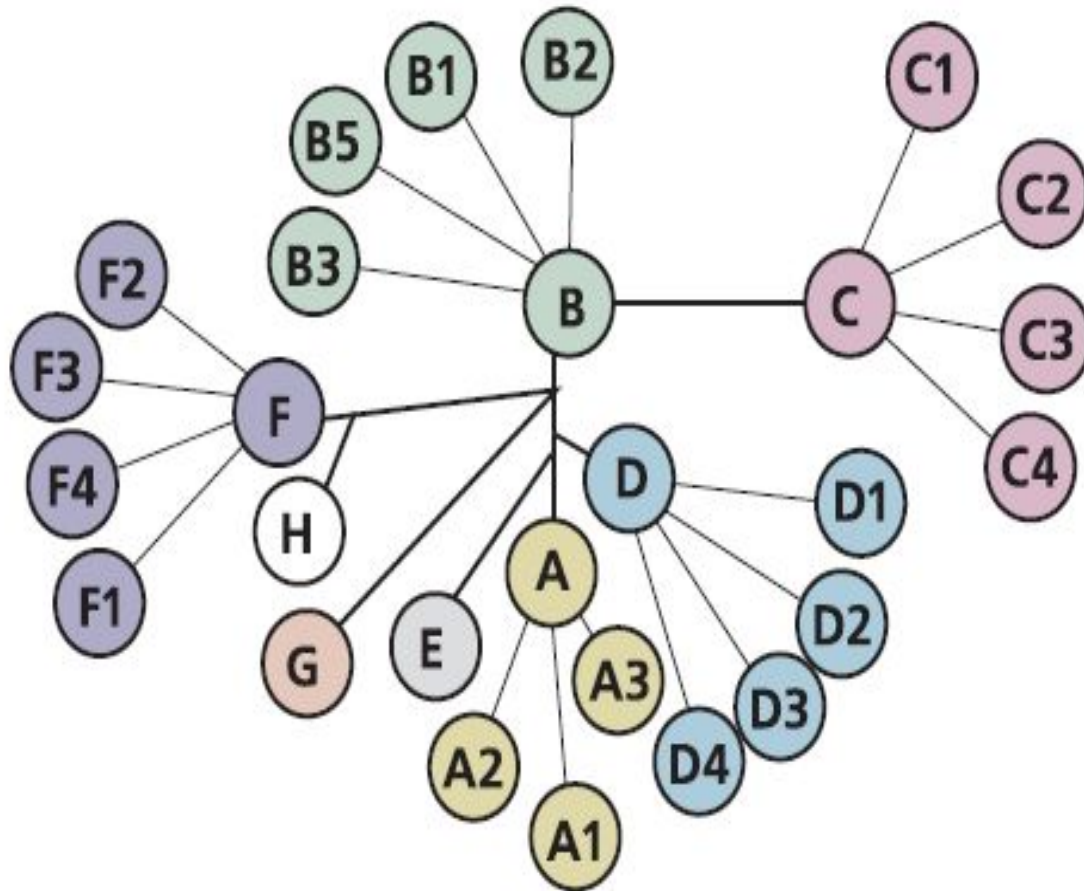
# ВГС: распределение генотипов в Беларуси





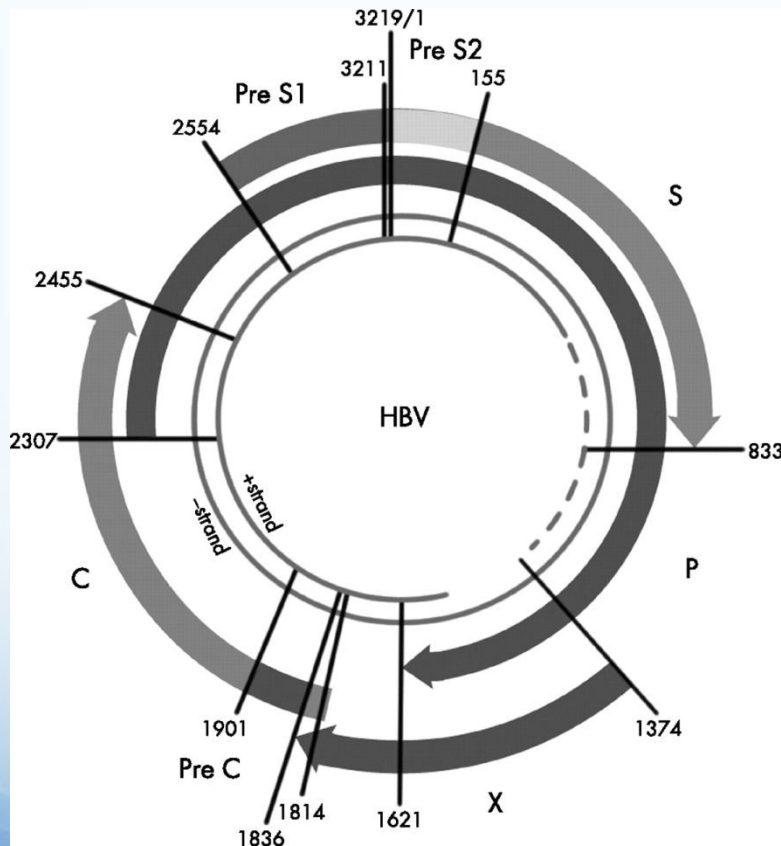
**Филогенетический анализ участка core/E1 вируса гепатита С пациентов Ч-ва Евгения и С-вич, 1b и 3a генотипы ВГС)**

# HBV genotypes



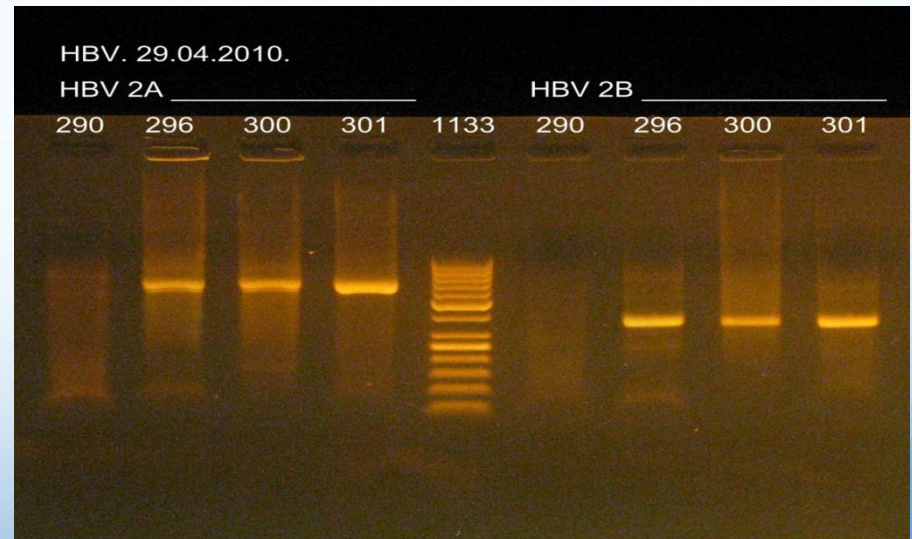
Schaefer S. Hepatitis B virus genotypes in Europe. *Hepatology Res* 2007;37:520-26.

# Genome HBV and electrophoresis results of the amplification preS2 gene fragment



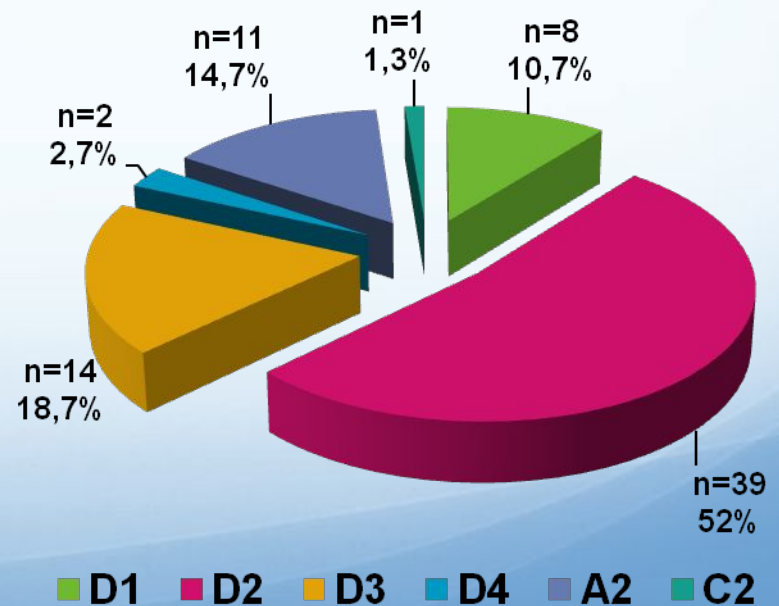
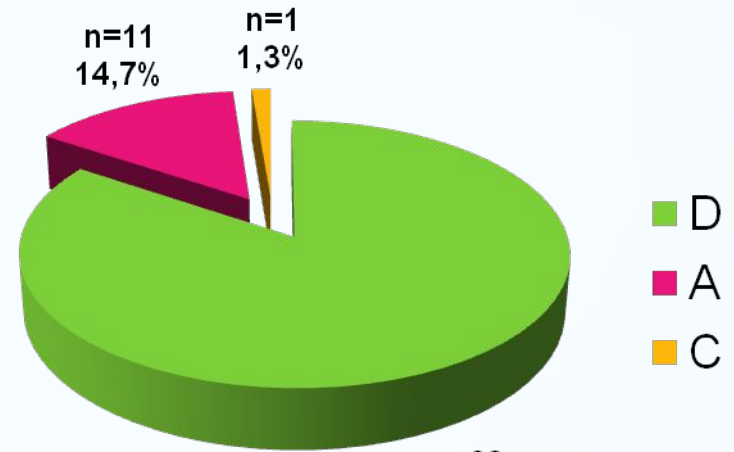
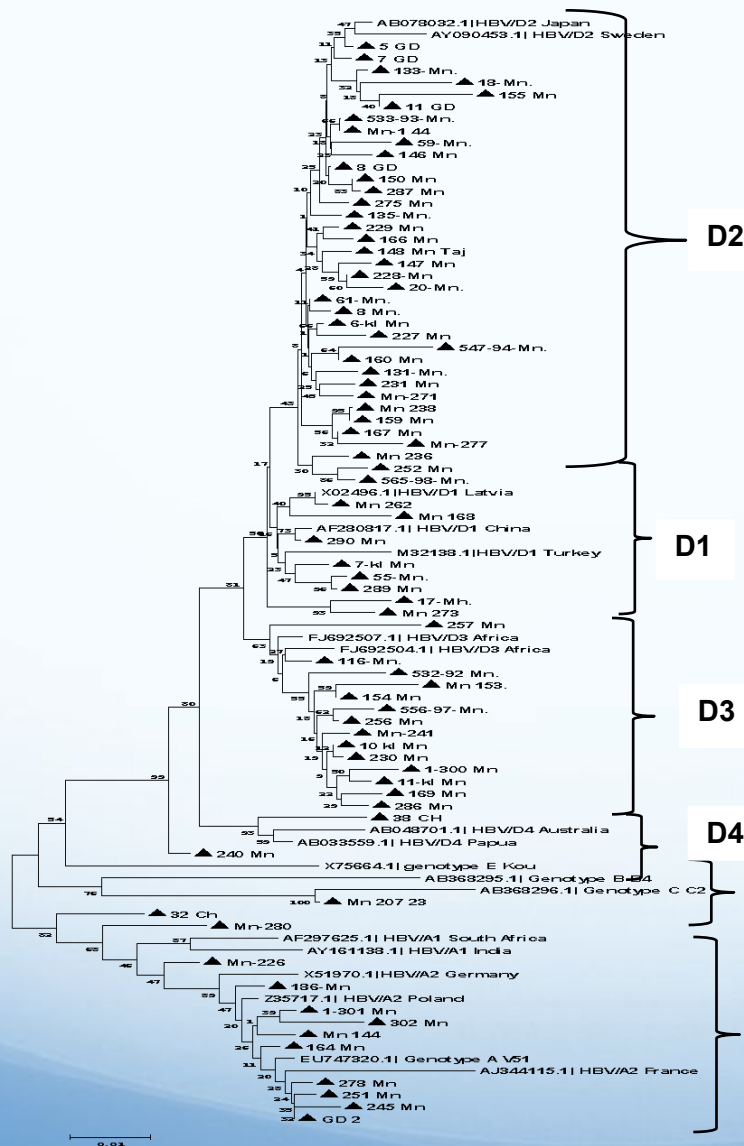
**First round:** fw Hep75 CCTGTAGGTGGCTCCAGTTC (56-75)  
 rw Hep 73B AGCCAGTGGGGGTTGCGTCAG (1187-1207)

**Second round:** fw Hep33 AGGACTGGGGACCCTG (1-16)  
 rw Hep 3 CTCAAGCTTCATCATCCATATA (573-594)  
 fw Hep4 CTTGGATCCTATGGGAGTGG (489-509)  
 rw Hep34 ACTTTCCAATCAATAGG (841-857)

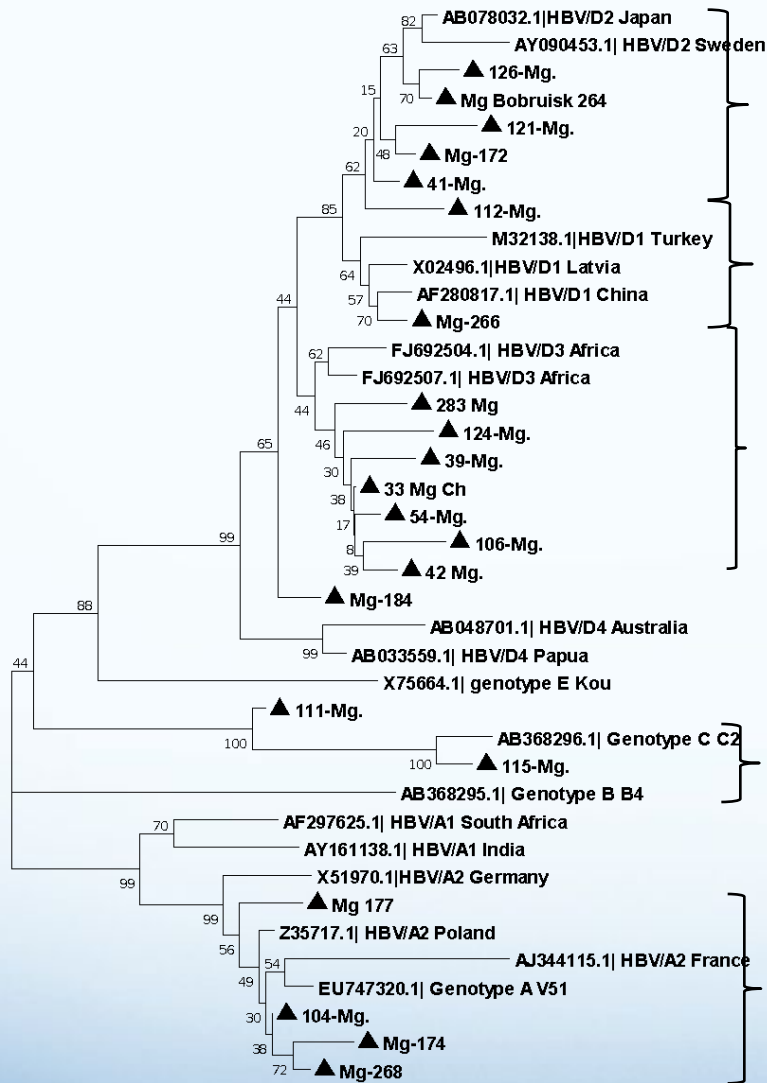




# Phylogenetic analysis of HBV preS2 sequences from infected individuals in Minsk and Minsk region



# Phylogenetic analysis of HBV preS2 sequences from infected individuals in Mogilev and Mogilev region



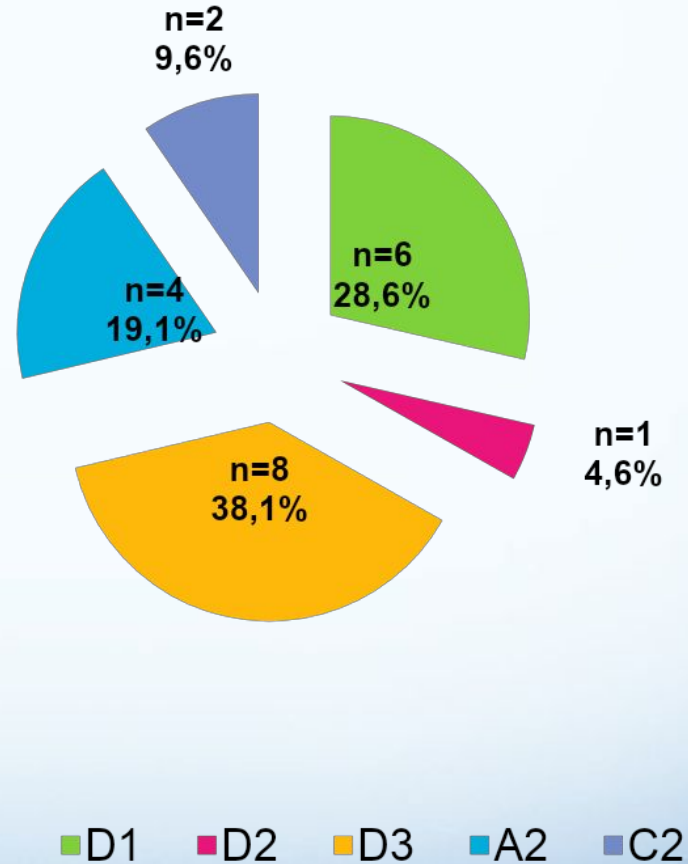
D2

D1

D3

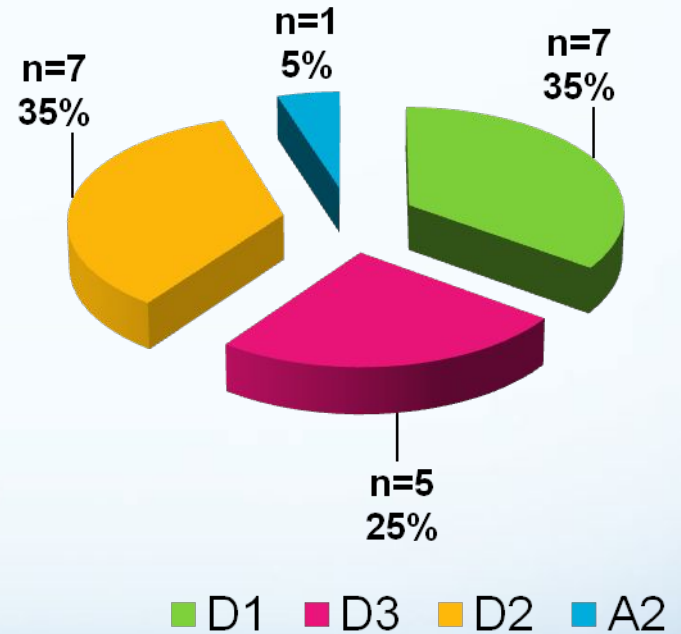
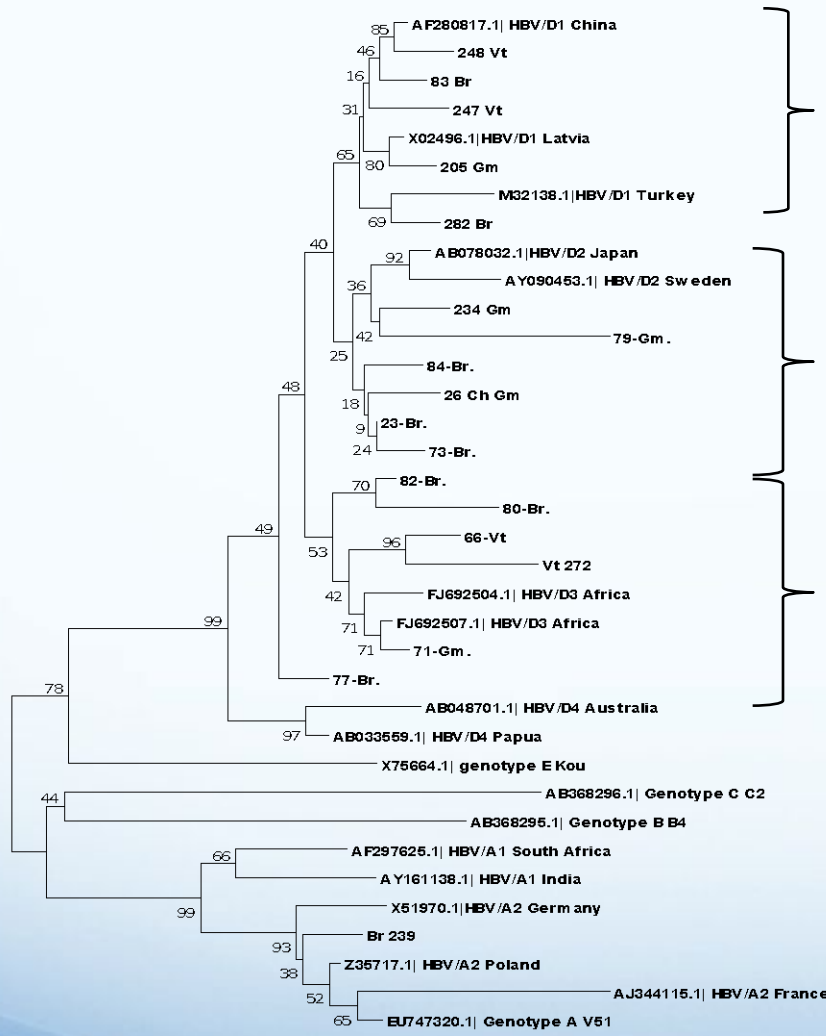
C2

A2



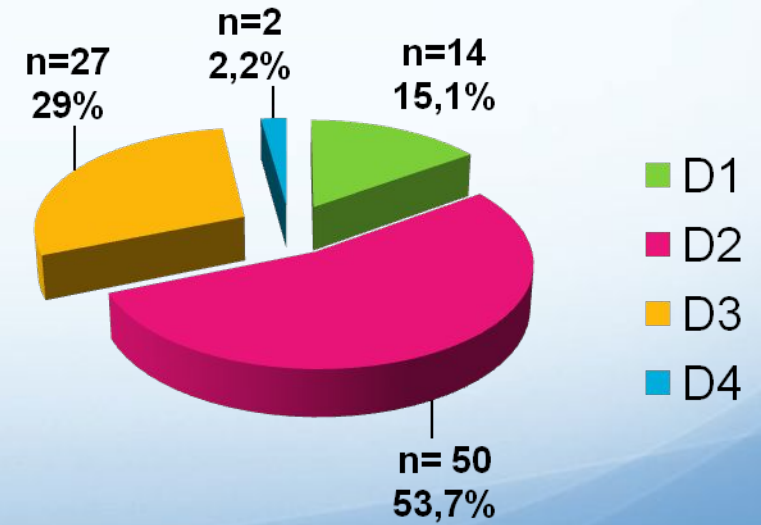
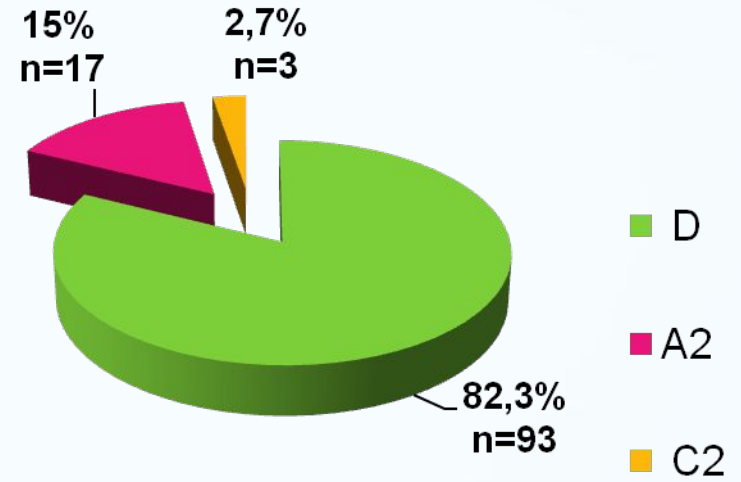
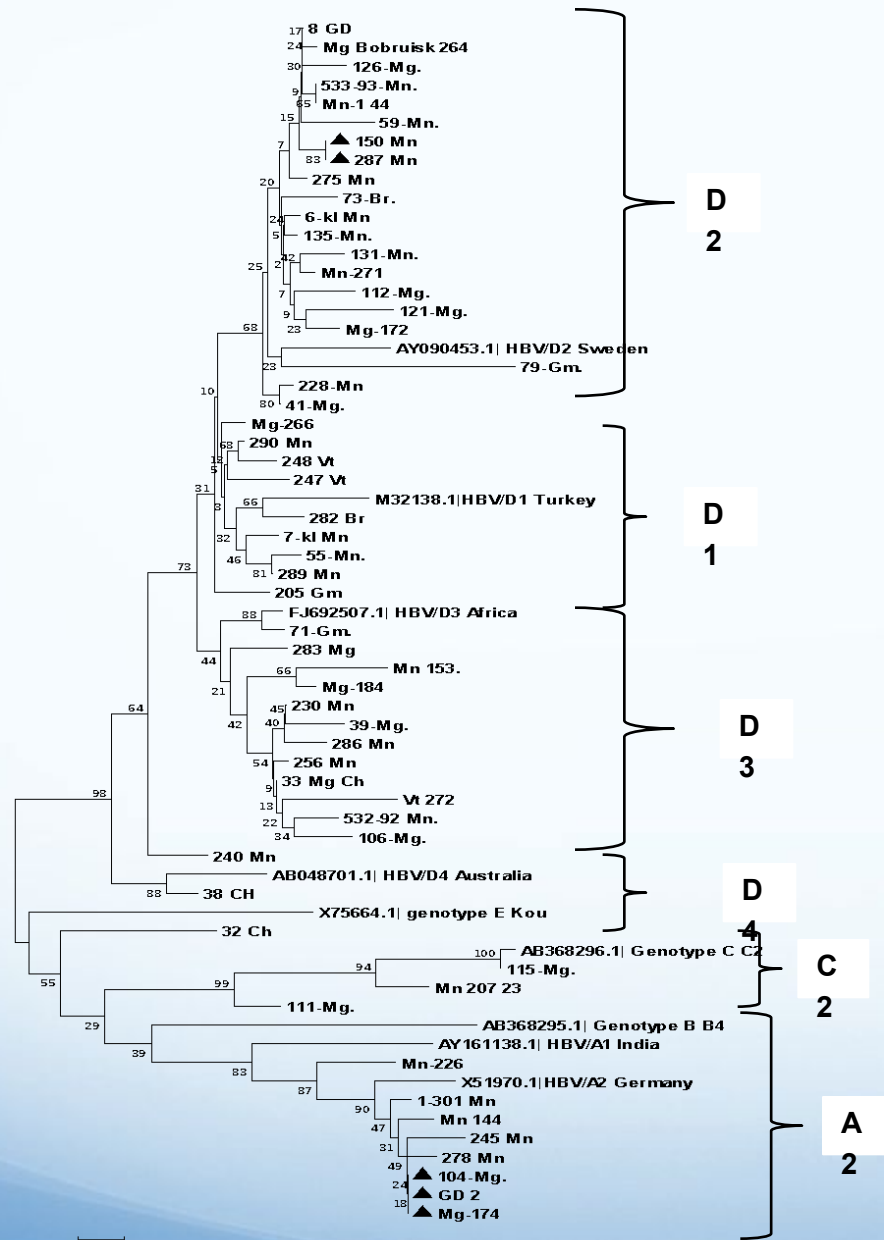
■ D1 ■ D2 ■ D3 ■ A2 ■ C2

# Phylogenetic analysis of HBV preS2 sequences from infected individuals in Brest, Vitebsk, Gomel



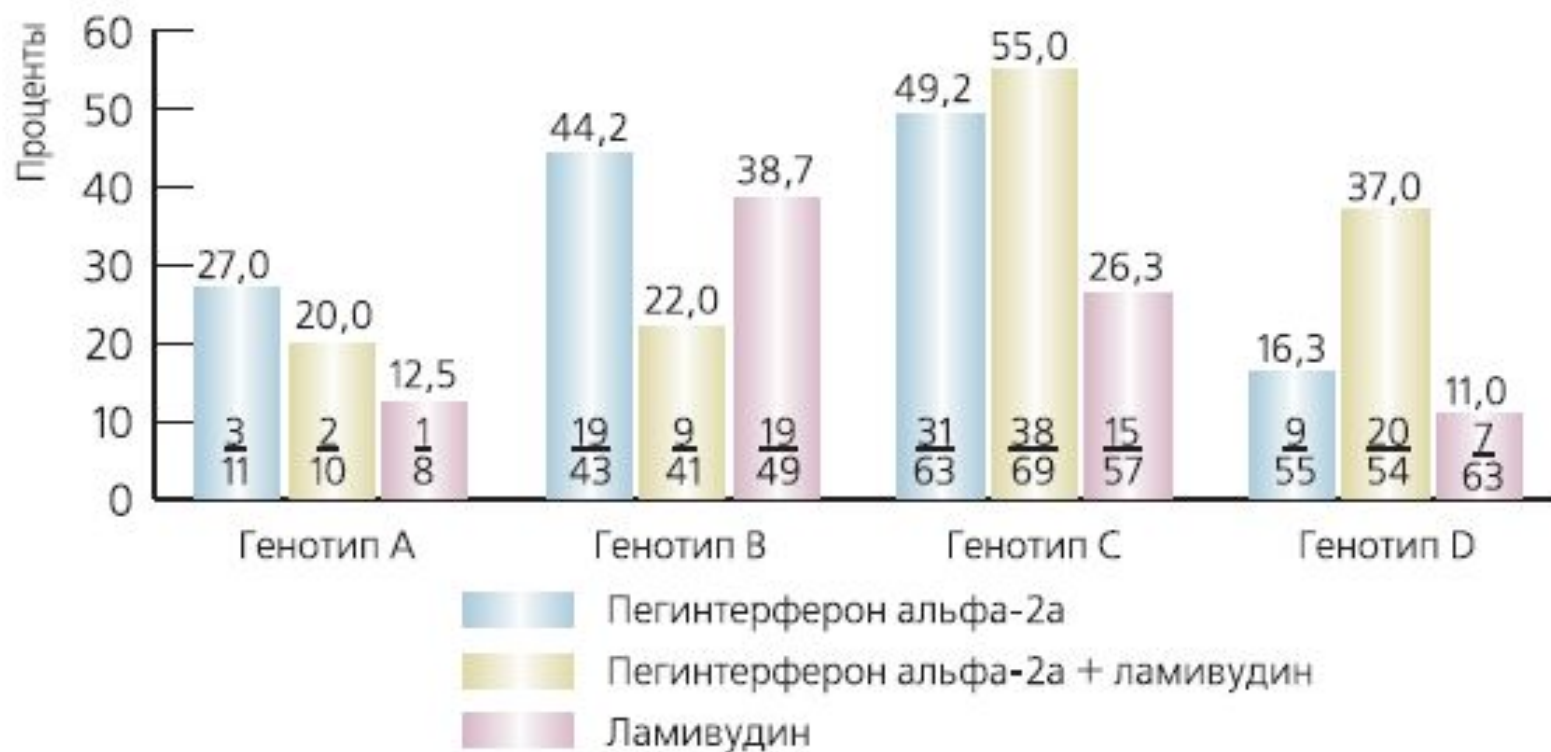
0.01

# Phylogenetic analysis of HBV sequences from infected individuals in Belarus



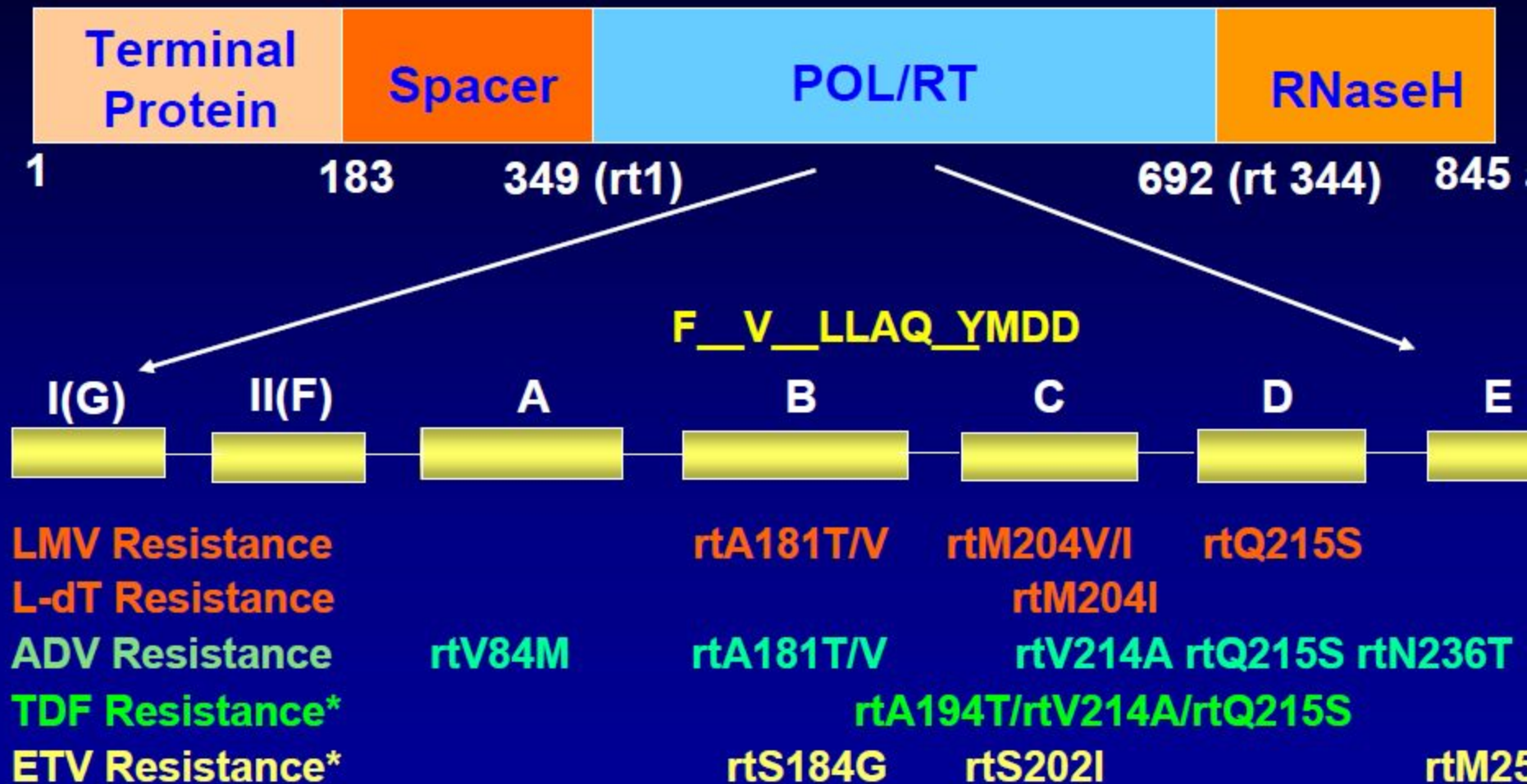
0.005

## Влияние генотипов HBV на эффективность противовирусного лечения HBeAg-негативного ХГВ





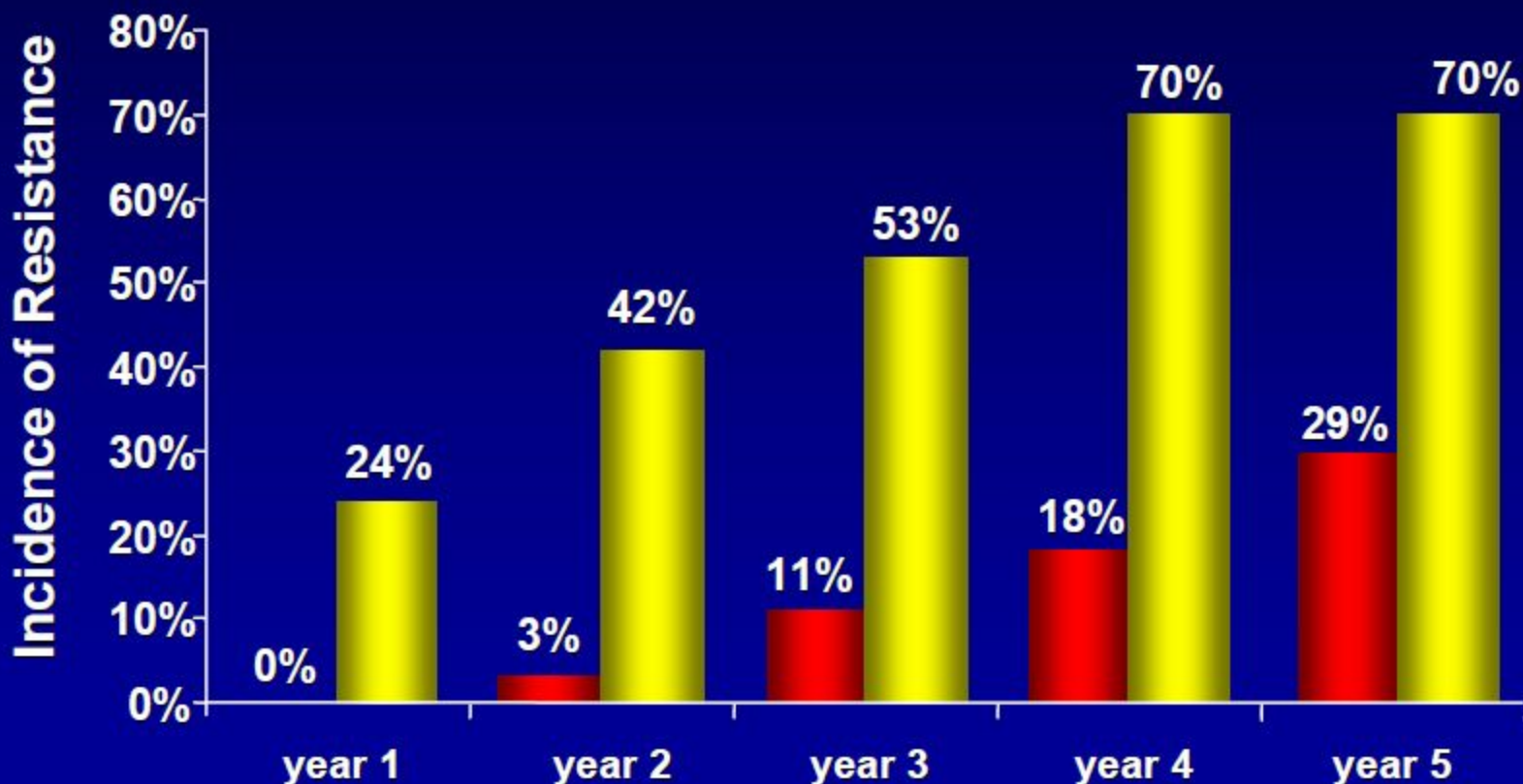
*Примечание.* В знаменателе дроби – количество пациентов, инфицированных тем или иным генотипом HBV, в числителе – количество пациентов, ответивших на терапию.

# Primary Resistance Mutations



# Incidence of HBV Resistance

-  Lamivudine resistance (rtL180M+rtM204V/I)
-  Adefovir resistance (rtN236T/rtA181V)







**Пациентка К., 18 лет (№196),** проживающей в г. Минске, была выполнена пересадка печени в апреле 2010 года. Диагноз ХГВ с развитием цирроза печени установлен в 2006 г. Начиная 2007 года, больная К. получала ламивудин, но препарат принимался нерегулярно. После трансплантации печени был назначен Неогепатект (Biotest Pharma GmbH Германия) в дозе 35000 ЕД, на фоне приема которого ДНК ВГВ не выявлялась. Через год была отмечена реактивация ВГВ и вирусная нагрузка ВГВ в сыворотке/плазме крови увеличилась до 880000 Ед/мл. Ламивудин был назначен повторно, но принимался так же нерегулярно. Пациентка К. умерла в 2011 году.

## I. Общая информация

<b>Пациент:</b>	<b>Исследование:</b>
<b>Дата рождения:</b>	Вирусная нагрузка:
<b>Дата взятия образца:</b>	Проба взята:
<b>№ образца: 196 1</b>	Генотип: D (D2)
<b>Тип образца:</b>	Дата отчета:
<b>Врач:</b>	

## II. Замены оснований в доменах

<b>RT-домен</b>	F122S, H124N, H126R, L180M, A181AV, M204V, N238H
<b>SHB-protein</b>	Q101QR, S114P, T118A, R122K, E164G, L173FL, V184AV, T189I, I195M, P203LP, I208T, C221Y
<b>Выход:</b>	

## III. Анализ резистентности

Препарат	Прогноз		Мутации
<b>Ламивудин:</b>	резистентный	R	180M, 204V, 181V
<b>Адефовир</b>	резистентный	R	181V
<b>Энтекавир</b>	чувствительный	S	180M, 204V
<b>Тенофовир</b>	чувствительный	S	none
<b>Телбивудин</b>	возможно резистентный	I	204V

**Пациентка Ч.** (№234, 40 лет, г.Гомель), пересадка печени была выполнена в марте 2009 года в связи с прогрессированием заболевания Вильсона-Коновалова. В мае 2010 года в сыворотке крови был впервые выявлен HBsAg, при этом уровень ДНК ВГВ превышал  $1,0 \times 10^8$  МЕ/мл. Больной Ч. начали терапию ламивудином. На фоне приема препарата в течение 1 года отмечалась положительная динамика в снижении титра вирусной нагрузки (май 2011 г -  $1,0 \times 10^6$  МЕ/мл, июль 2011 г. -  $4,6 \times 10^5$  МЕ/мл). Через 4 месяца количество ДНК ВГВ в сыворотке/плазме крови увеличилось почти в 100 раз ( $3,9 \times 10^7$  МЕ/мл). Методом ИФА был выявлен HBsAg, но анти-HBeAb не определялись.

## I. Общая информация

Пациент:	Исследование:
Дата рождения:	Вирусная нагрузка:
Дата взятия образца:	Проба взята:
№ образца 234_1	Генотип: D (D2)
Тип образца:	Дата отчета:
Врач:	

## II. Замены оснований в доменах

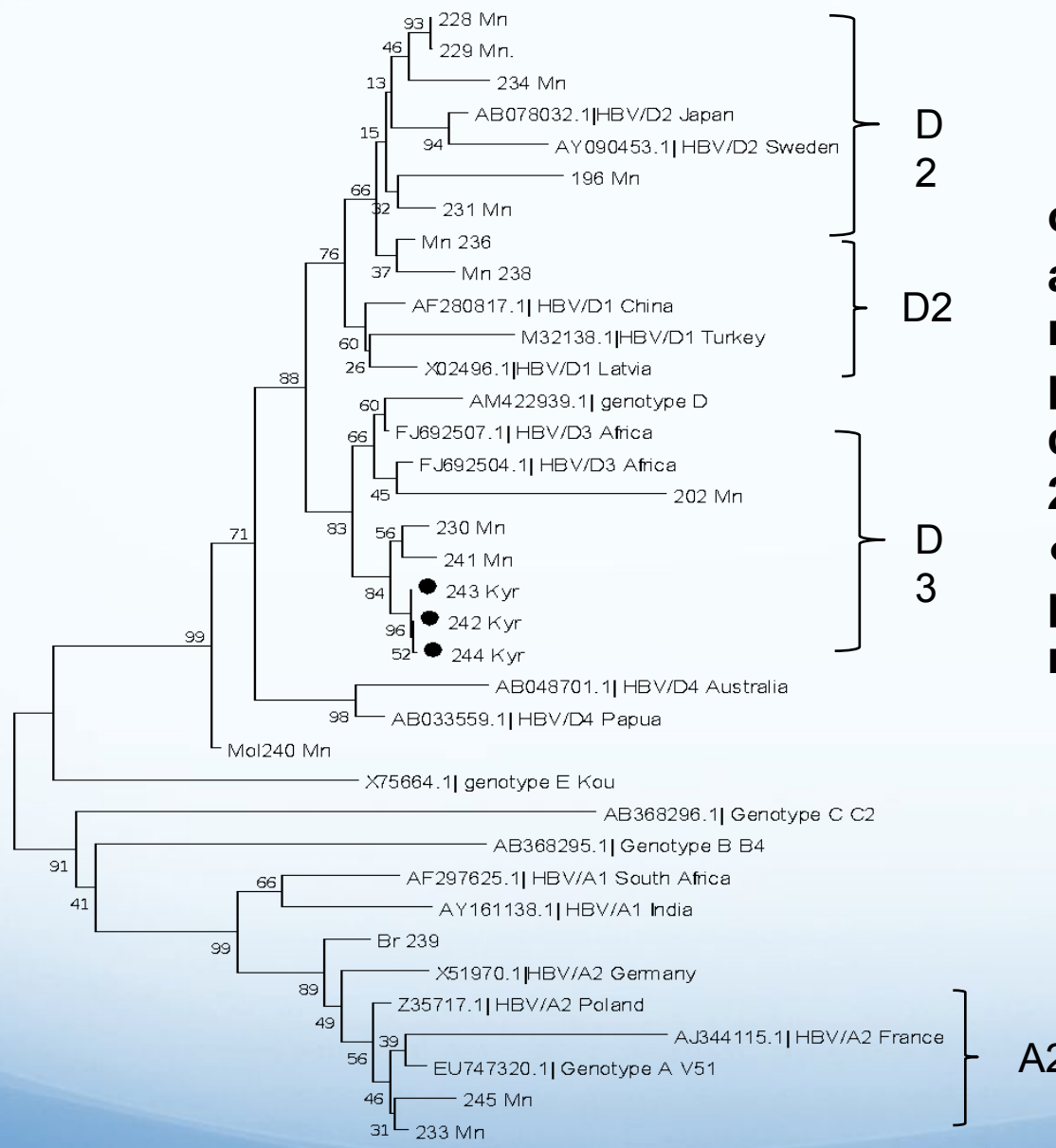
RT-домен	H126R, V173L, L180M, M204V, N238T, Y257F, E271
SHB-protein	T118A, E164D, I195
Выход:	

## III. Анализ

Препарат	Прогноз		Мутации
Ламивудин:	резистентный	R	173L, 180M, 204V
Адефовир	чувствительный		нет
Энтекавир	чувствительный	S	180M, 204V
Тенофовир	чувствительный	S	нет
Телбифудин	возможно резистентный	I	204V

# Случай внутрисемейной передачи вируса гепатита В

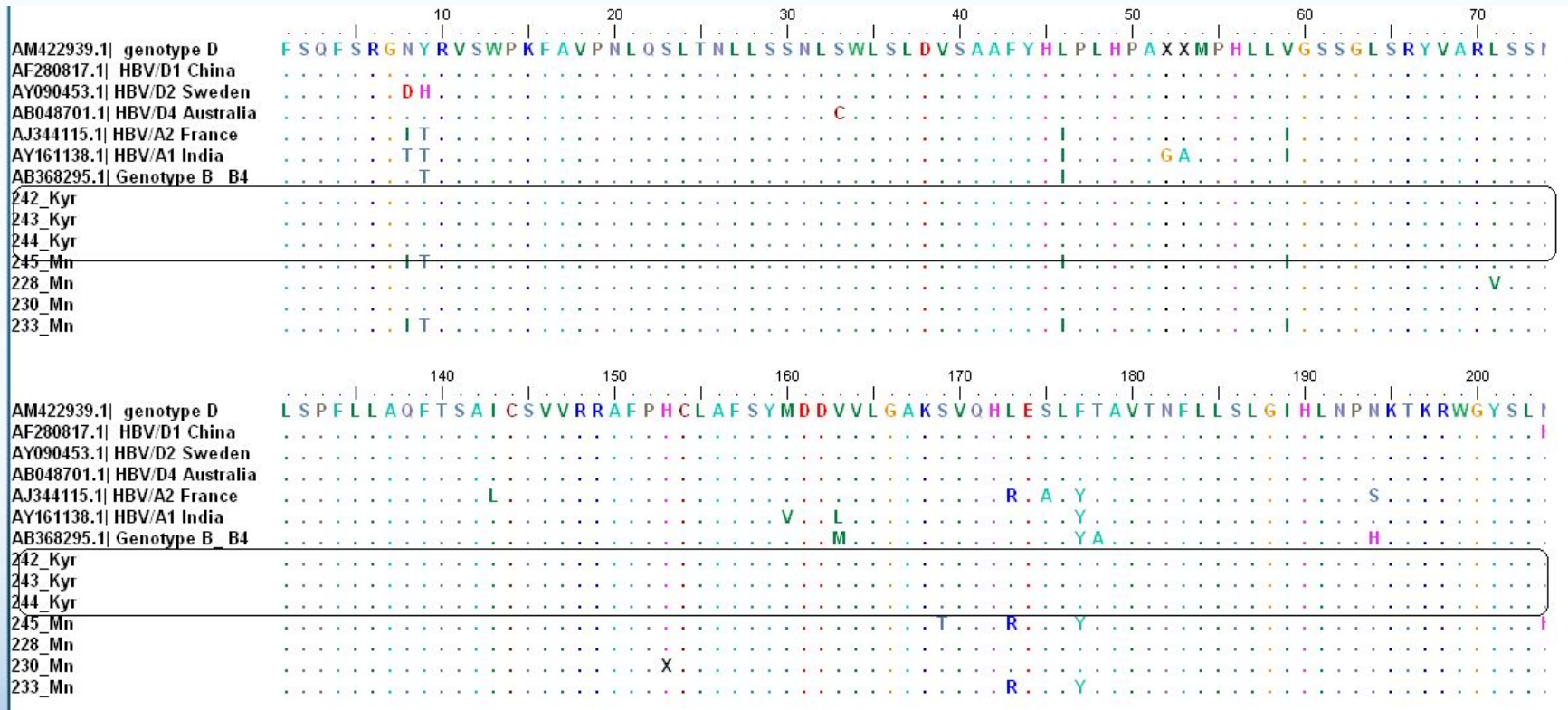
- Проведено исследование 3-х образцов сыворотки/плазмы крови, полученных от матери (№242, 1963 г.р.), сына (№243, 1993 г.р.) и дочери (№244, 1987 г.р.) с хронической формой ВГВ-инфекцией, проживающих в Кыргызстане

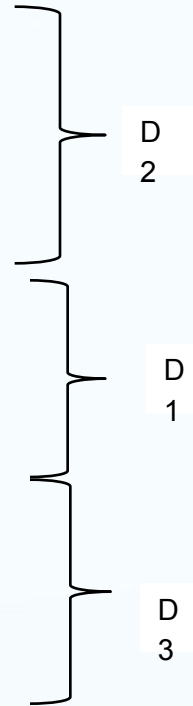
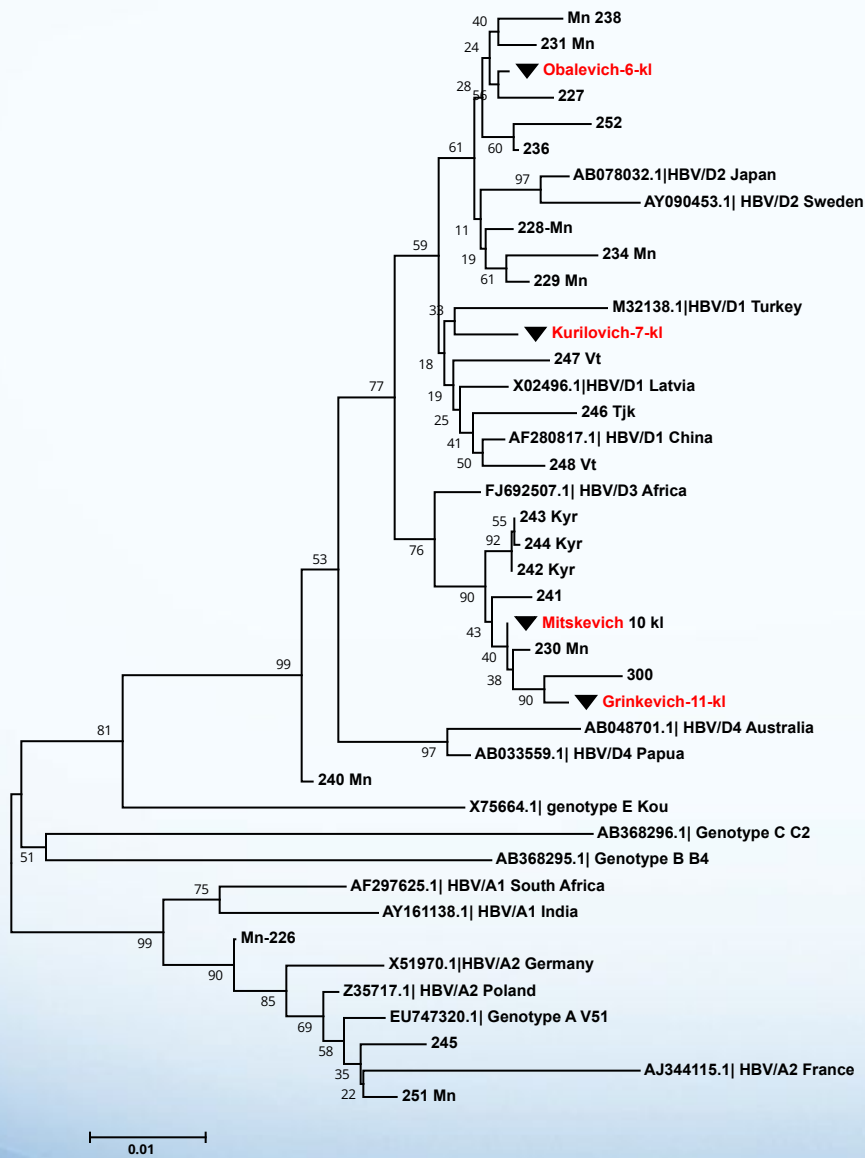


**Филогенетический анализ нуклеотидных последовательностей pre-S гена гепатита В в семье (●242 – мама, ● 243- сын, ● 244 – дочь) и референсных последовательностей.**

0.01

# Аминокислотная последовательность pre-S участка генома ВГВ





**Филогенетический анализ нуклеотидных последовательностей pre-S гена ВГВ образцов, полученных от детей, инфицированных ВГВ**



# Прикладное значение методов молекулярной эпидемиологии

- качественная характеристика эпидпроцесса на определенной территории (определение генотипов, субтипов, направления их заноса, выявление новых субтипов, вариантов и т.д.);
- расшифровка вспышек (гепатитов В и С, например донор-реципиент);
- назначение адекватного лечения, эффективных схем (гепатита В);
- выявление резистентных к препаратам специфической терапии штаммов (гепатит В);
- контроль за эффективностью лечения (гепатит С, В);
- контроль за качеством применяемых серологических и молекулярно-биологических тестов, (тест-системы на гепатит В учитывают только 4 субтипа вируса и т.д.);
- разработка новых диагностических и профилактических препаратов к наиболее распространенным вариантам вирусов;
- изучение происхождения и эволюции вирусов;

# МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОЛОГИЯ ВИРУСОВ ГЕПАТИТА В И С В РЕСПУБЛИКЕ БЕЛАРУСЬ

**К.б.н. Елена Гасич**

*Республиканский научно-практический  
центр эпидемиологии и микробиологии*

**Гродно, 2012**

