

МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОЛОГИЯ ВИРУСОВ ГЕПАТИТА В И С В РУСПУБЛИКЕ БЕЛАРУСЬ

К.б.н. Елена Гасич

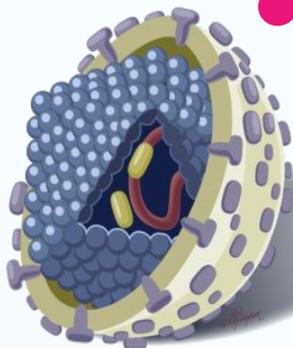
*Республиканский научно-практический
центр эпидемиологии и микробиологии*

Гродно, 2012



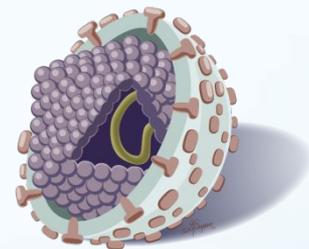
- **Вирусные гепатиты с парентеральным механизмом передачи возбудителей и, прежде всего, вирусные гепатиты В и С занимают одно из ведущих мест в инфекционной патологии человека и являются важнейшей проблемой мирового здравоохранения. Такая оценка этих гепатитов определяется повсеместным распространением, 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.

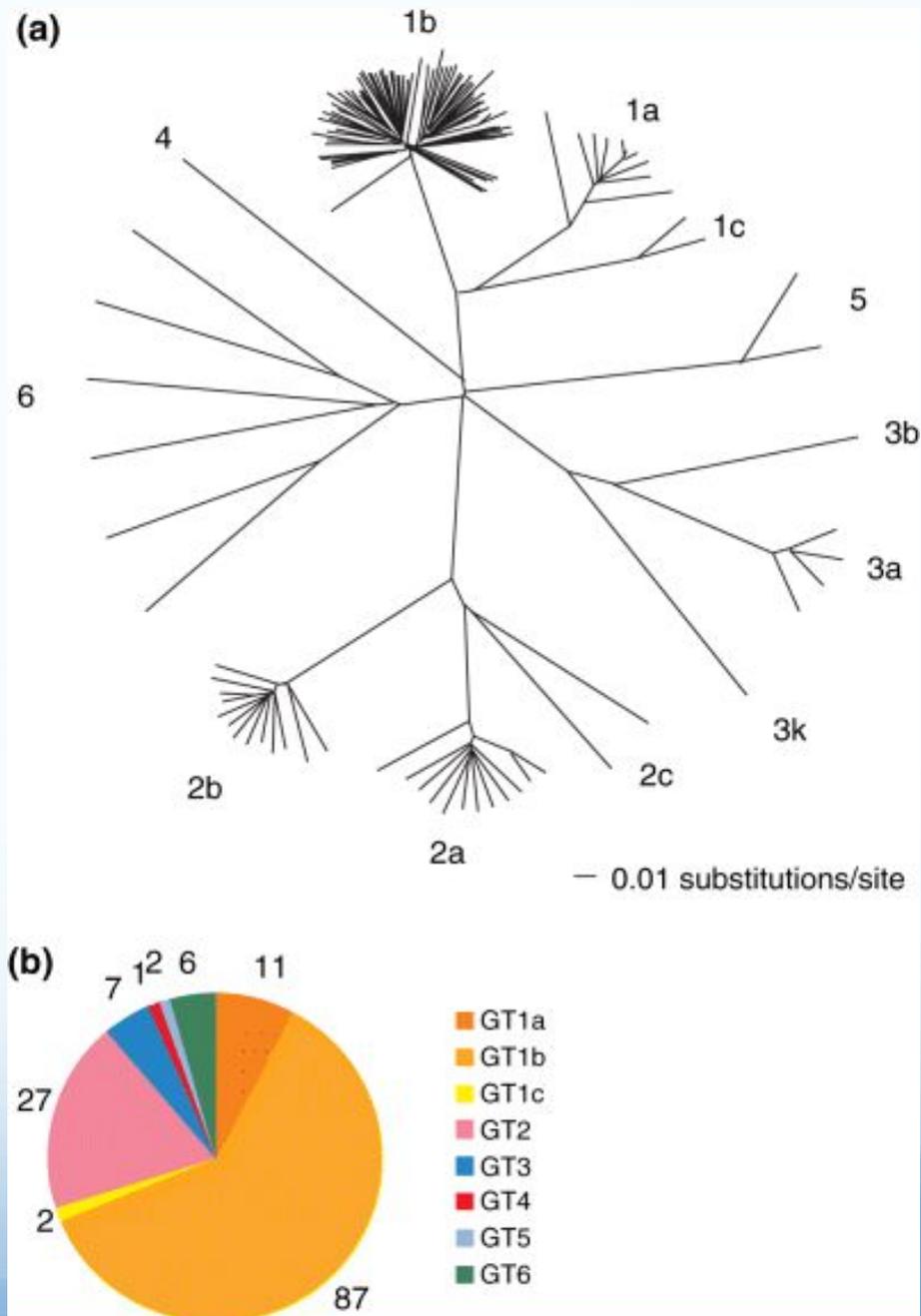
- Многолетняя персистенция ВГС приводит к развитию хронического гепатита у 70-85% больных, у которых в 20-30% случаев наблюдается формирование ЦП с высоким риском прогрессирования в ГЦК (до 10%).



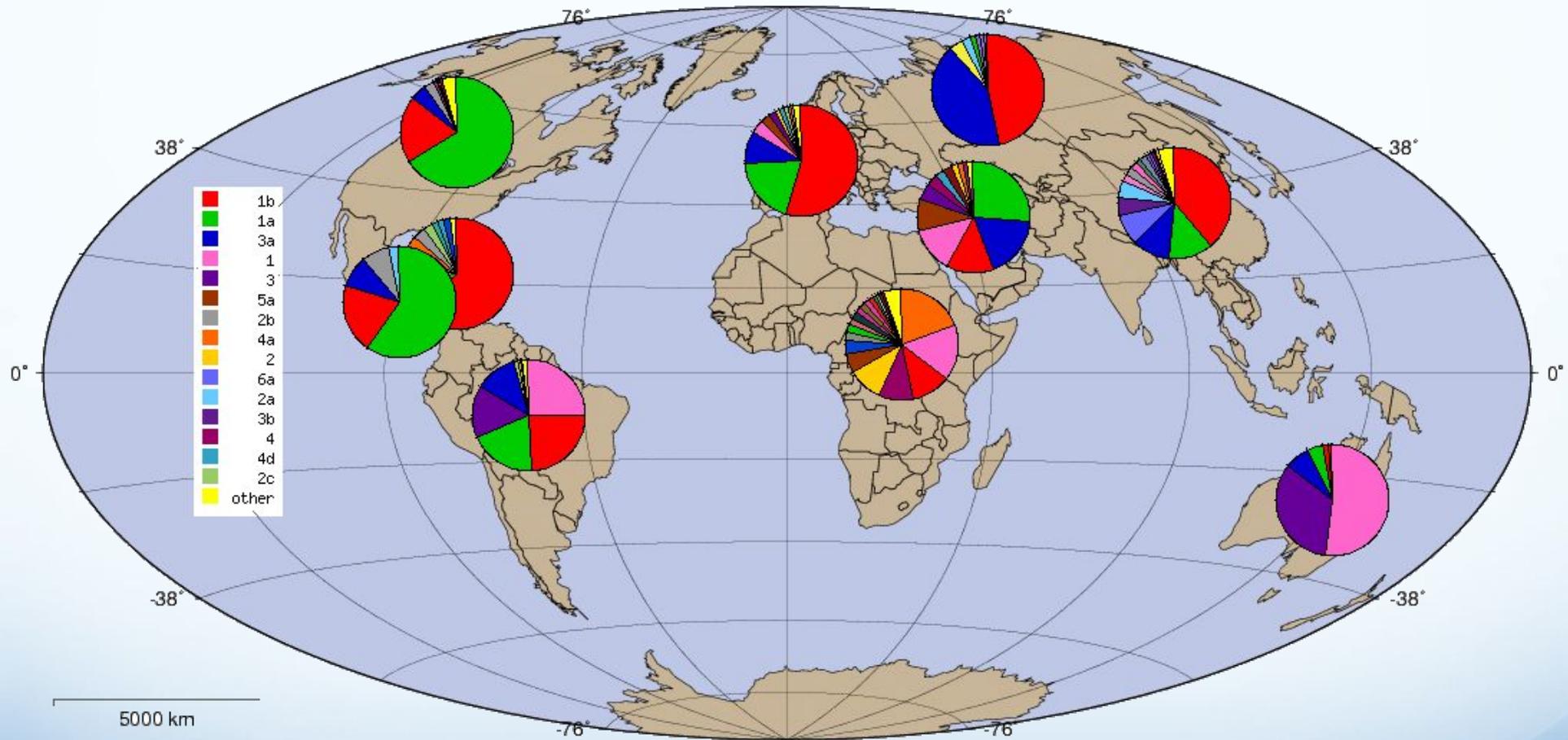
- По данным ВОЗ в ближайшие 10-20 лет **хронический гепатит С** станет основной причиной пересадки печени

ВГС. Генотипы

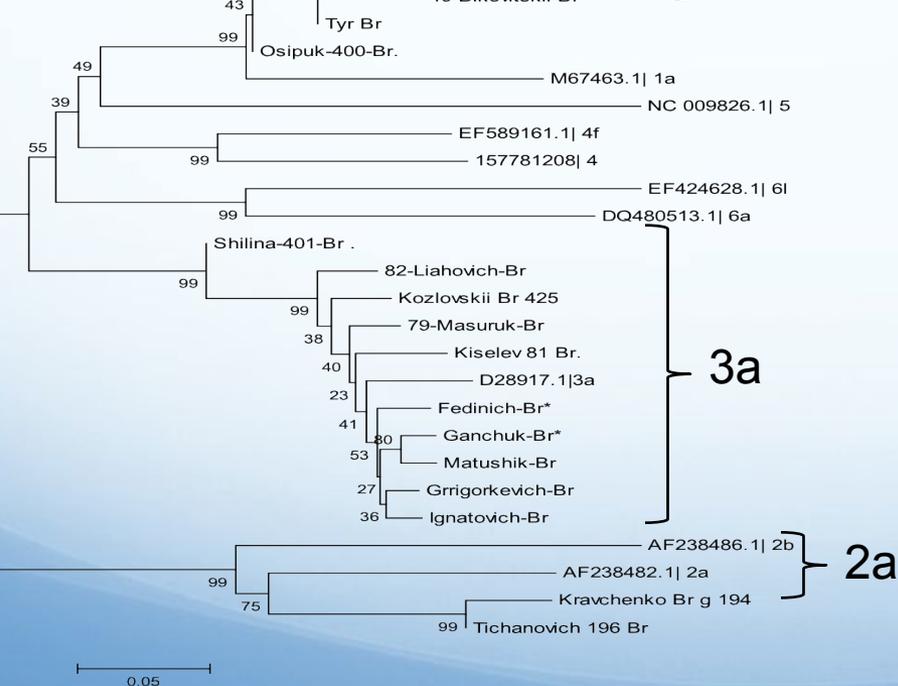
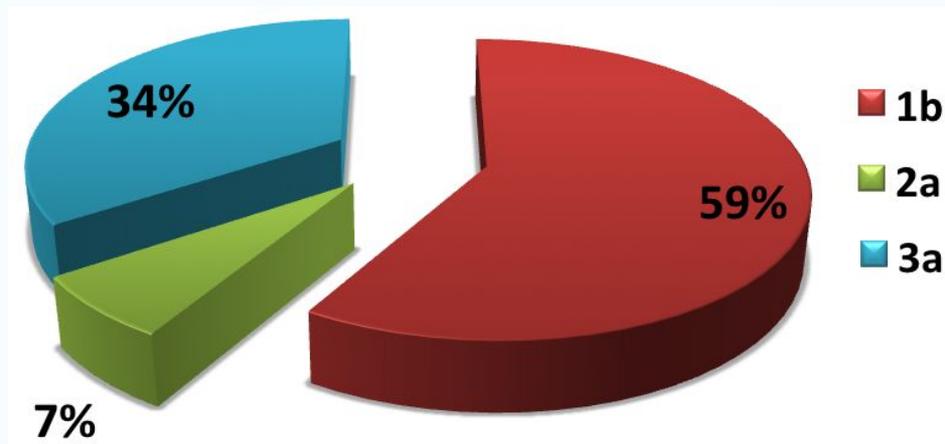
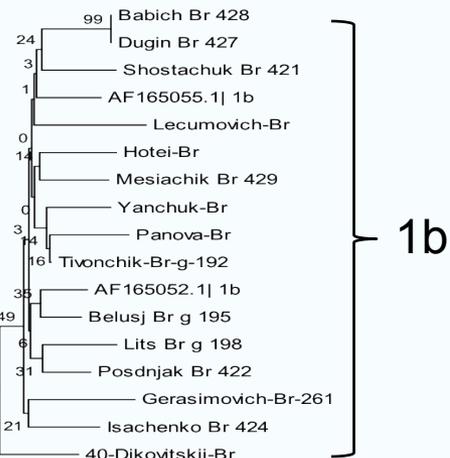
а – филогенетическое распределение генотипов
б – частота выявления различных генотипов в мире



ВГС. Распространенность генотипов в мире

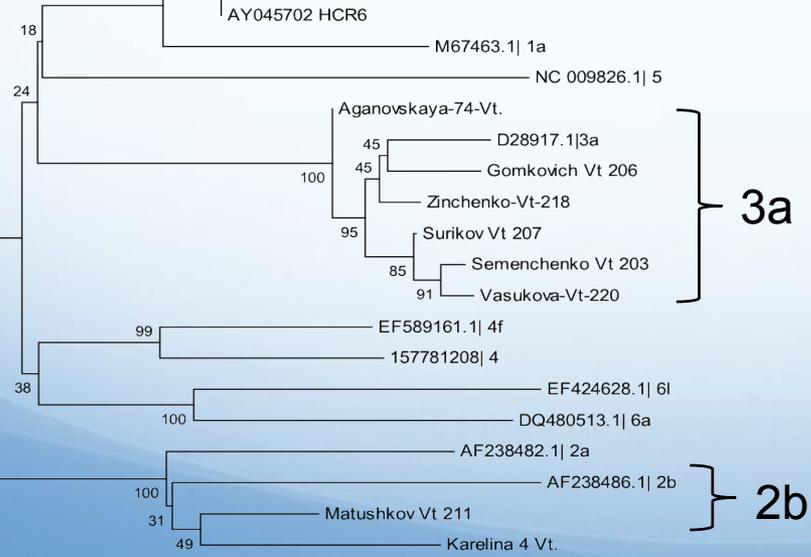
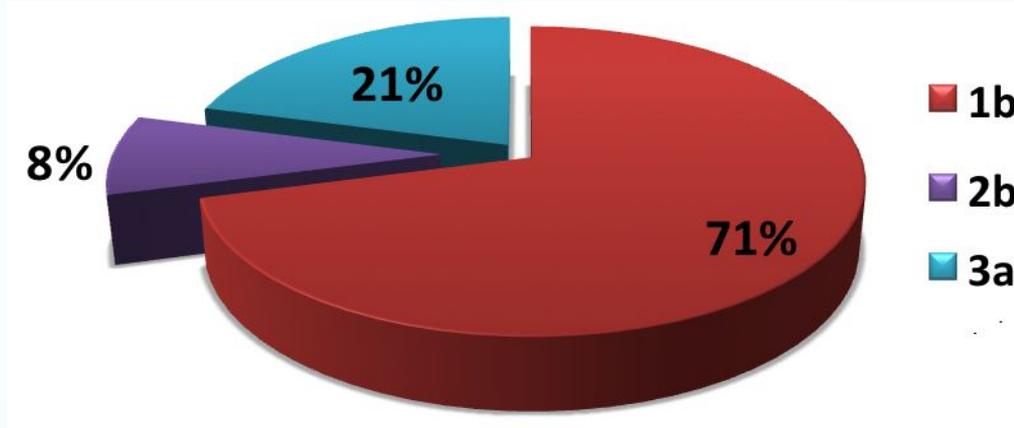
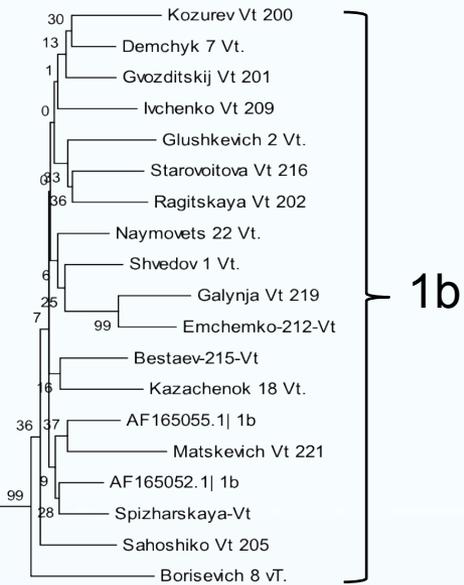


ВГС. Филогенетический анализ нуклеотидных последовательностей. Брест и область



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

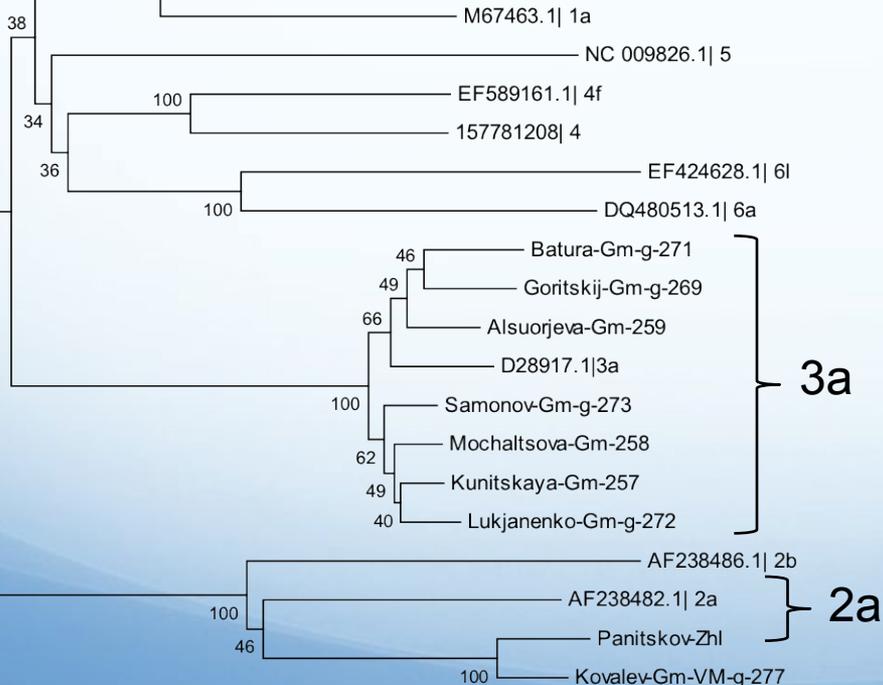
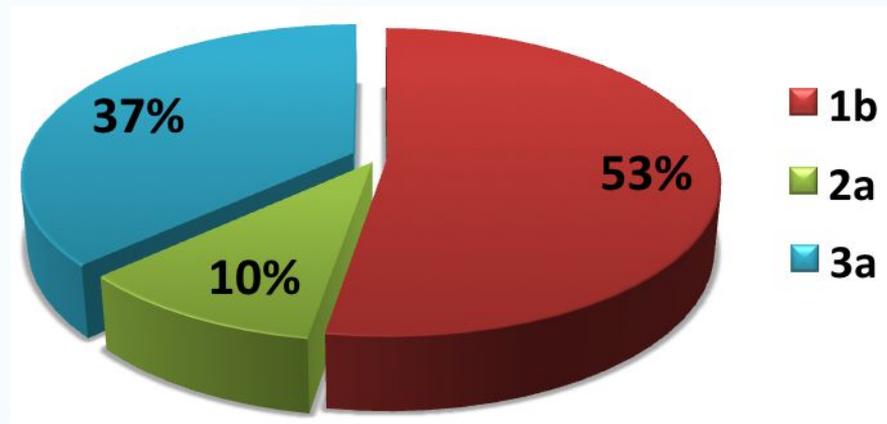
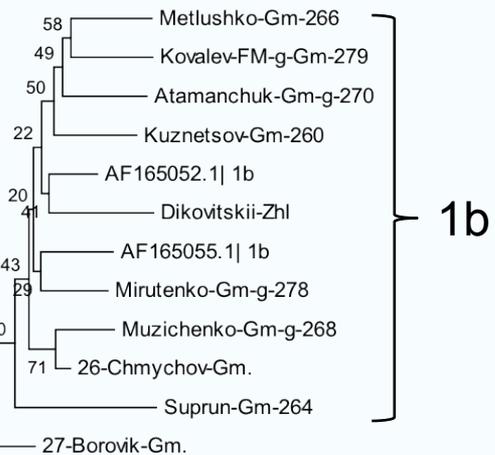
ВГС. Филогенетический анализ нуклеотидных последовательностей. Витебск и область



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

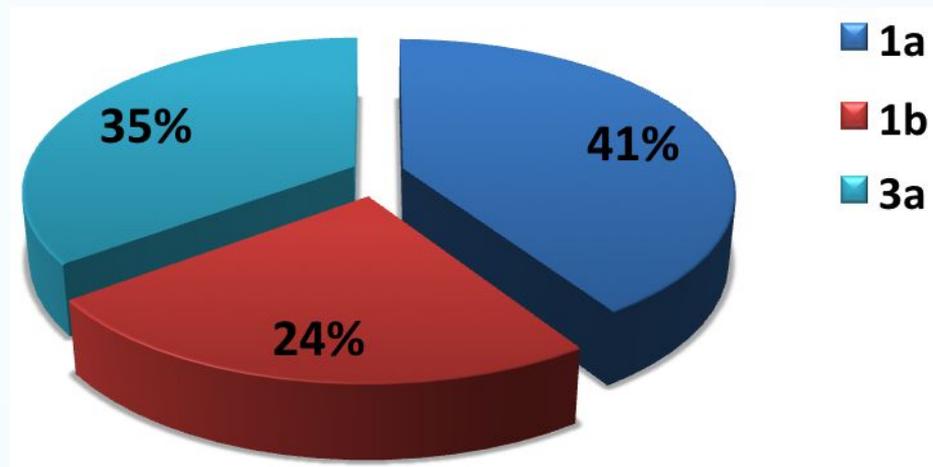
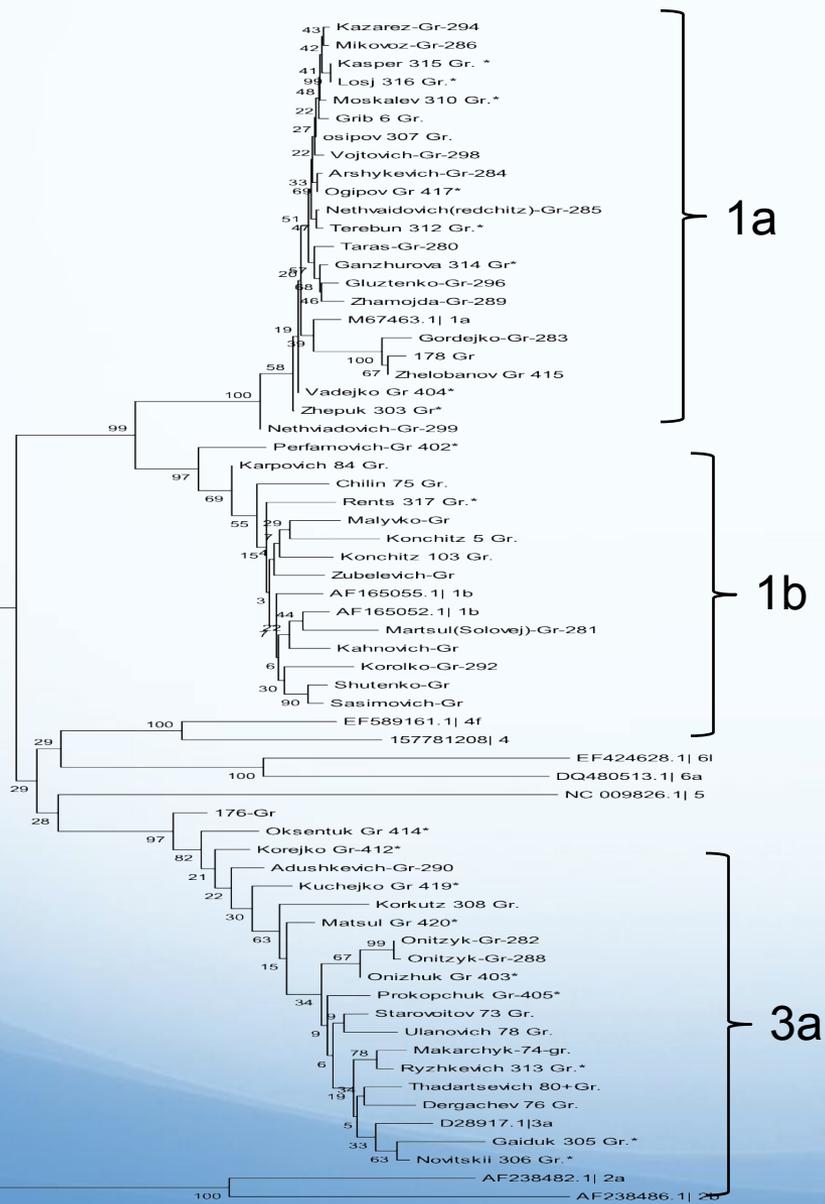
0,02

ВГС. Филогенетический анализ нуклеотидных последовательностей. Гомель и область



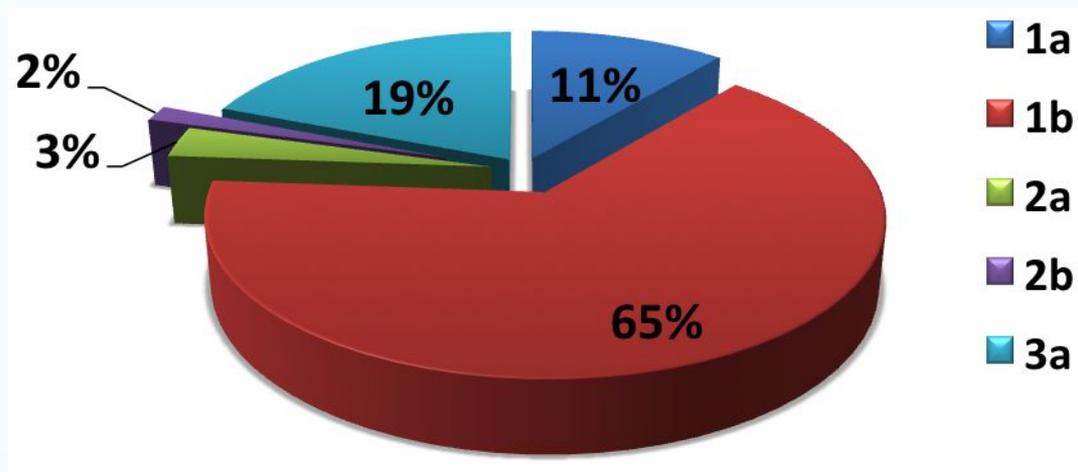
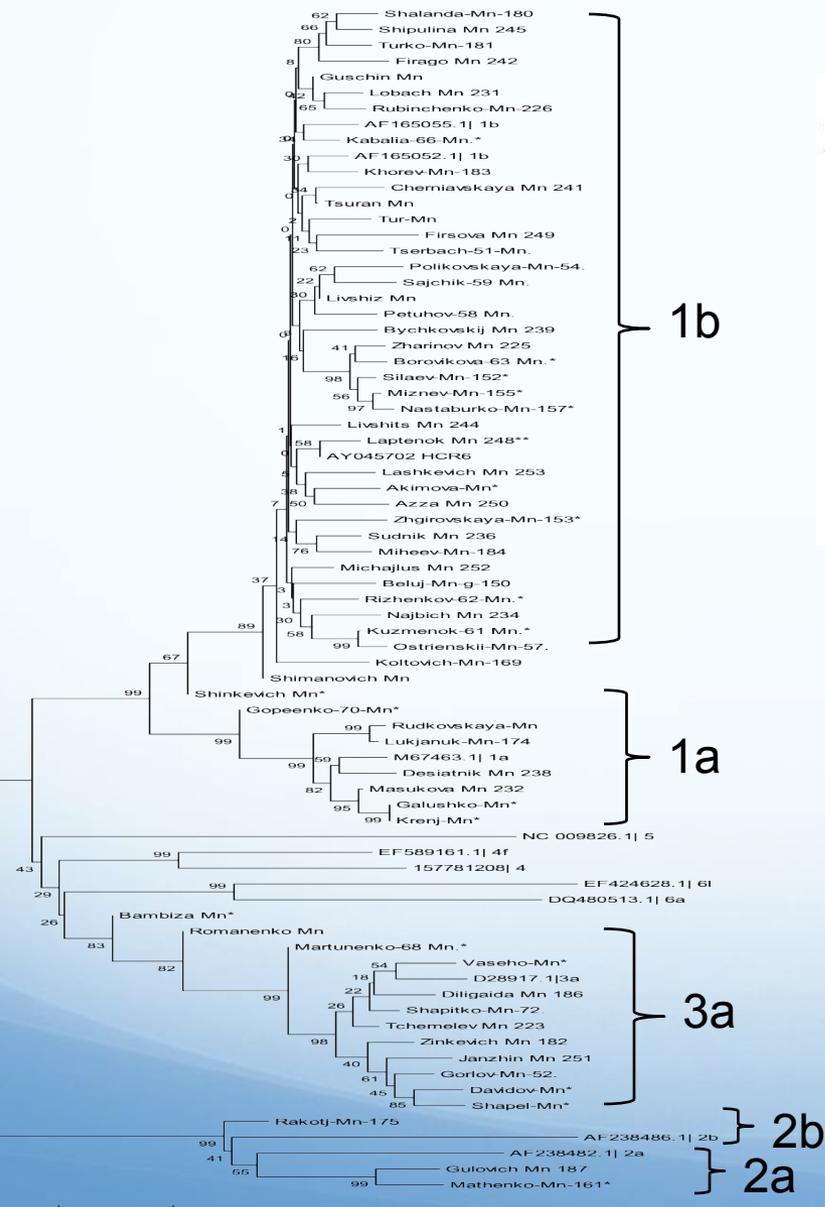
	Генотип ВГС				
	1a	1b	2a	2b	3a
ВИЧ -		9	1		8
ВГВ			1		
Всего	0	9	2	0	8

ВГС. Филогенетический анализ нуклеотидных последовательностей. Гродно и область



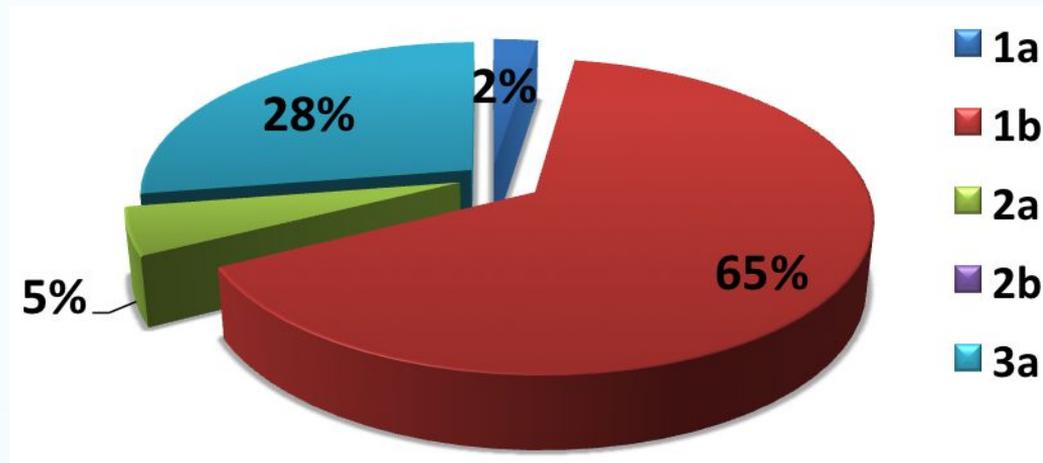
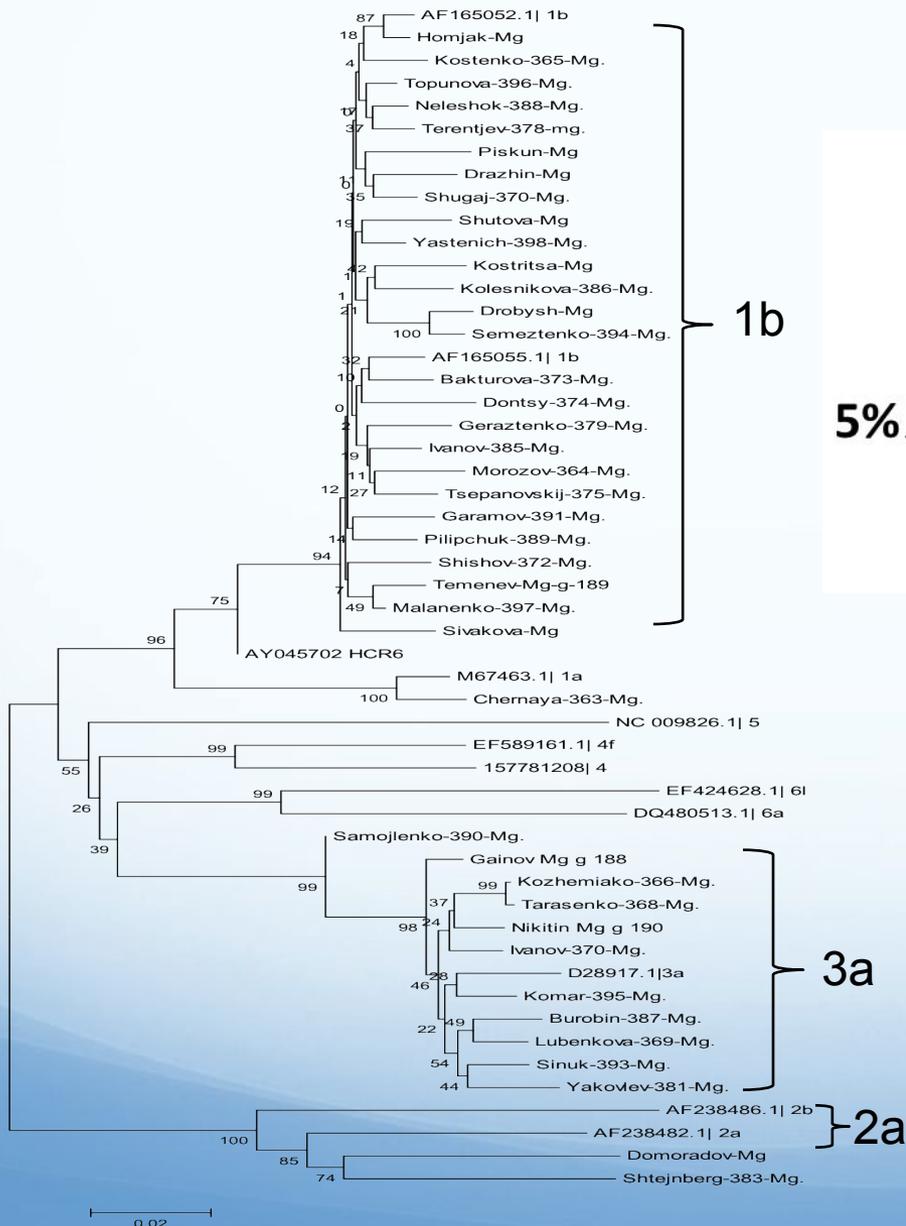
	Генотип ВГС				
	1a	1b	2a	2b	3a
ВИЧ -	9	10			9
ВИЧ +	13	3			10
Всего	22	13	0	0	19

ВГС. Филогенетический анализ нуклеотидных последовательностей. Минск и область



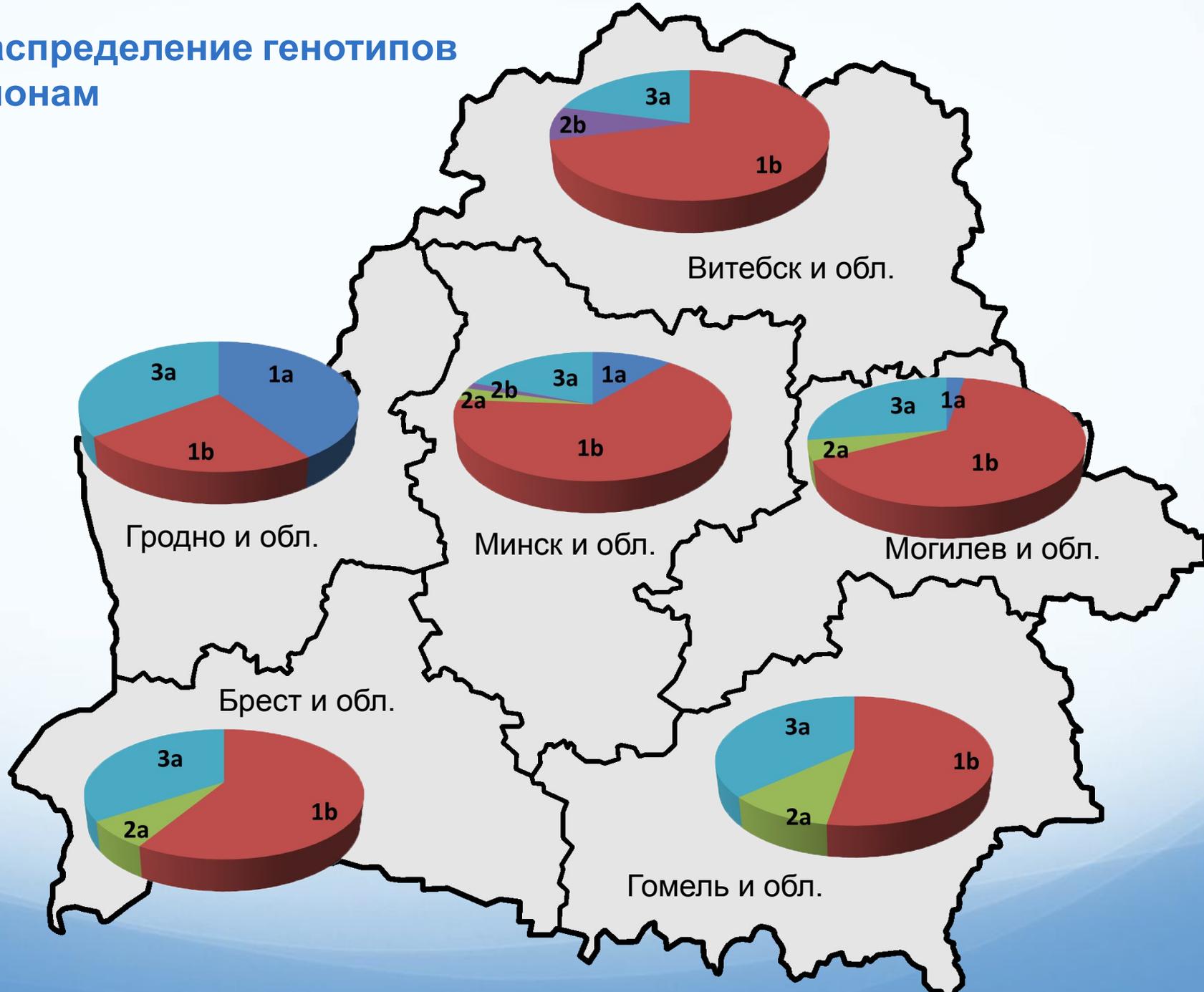
	Генотип ВГС				
	1a	1b	2a	2b	3a
ВИЧ -	4	30	1	1	7
ВИЧ +	3	11	1		5
ВГВ +		1			
Всего	7	41	2	1	12

ВГС. Филогенетический анализ нуклеотидных последовательностей. Могилев и область

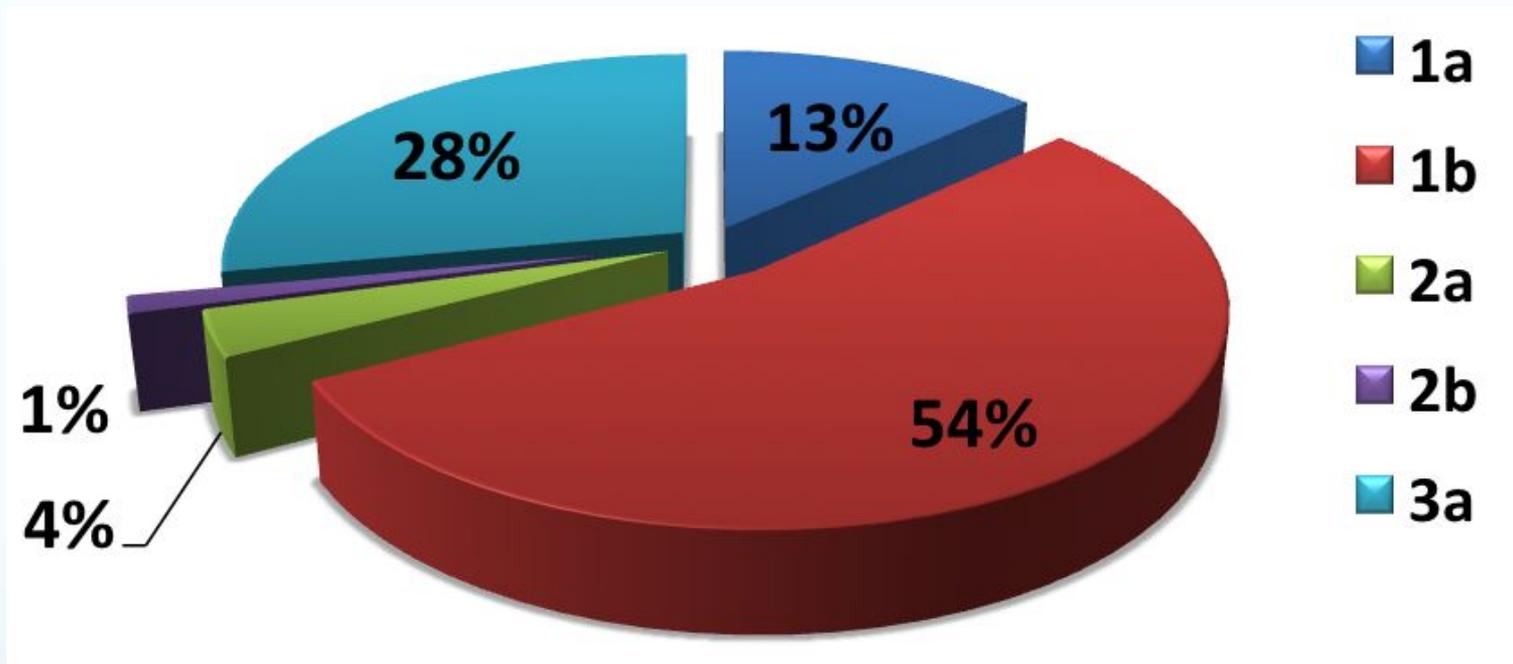


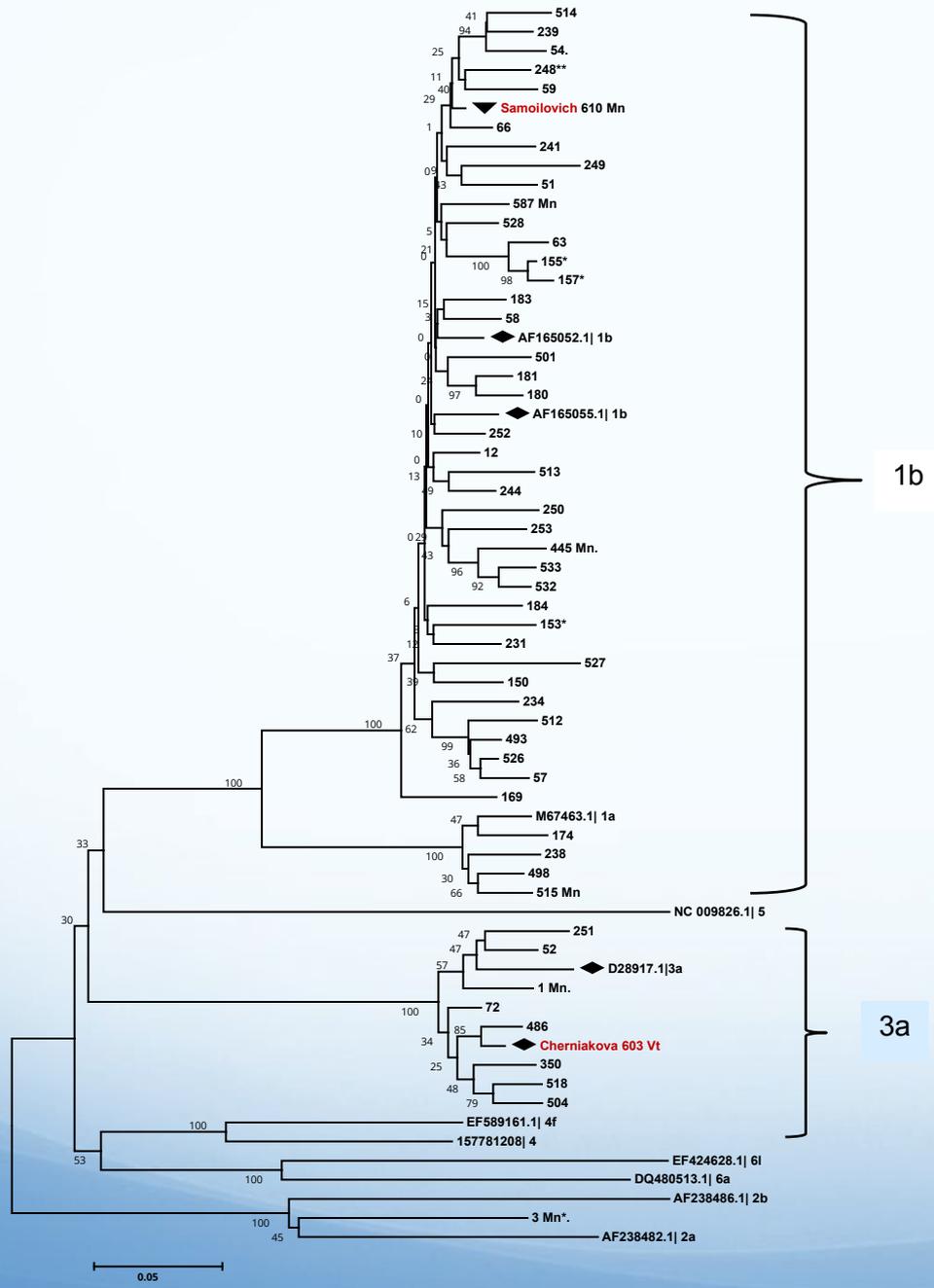
	Генотип ВГС				
	1a	1b	2a	2b	3a
ВИЧ -	1	25	2		11
ВИЧ +		1			
Всего	1	26	2	0	11

ВГС: распределение генотипов по регионам



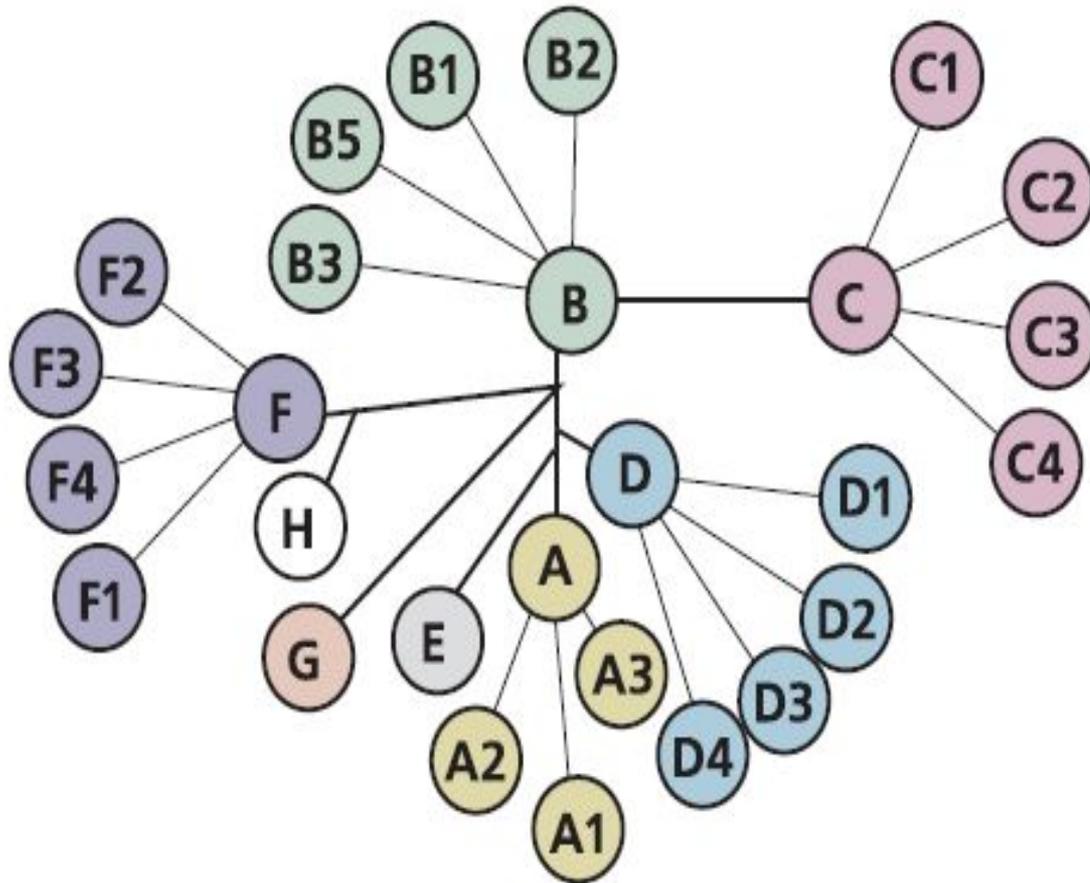
ВГС: распределение генотипов в Беларуси





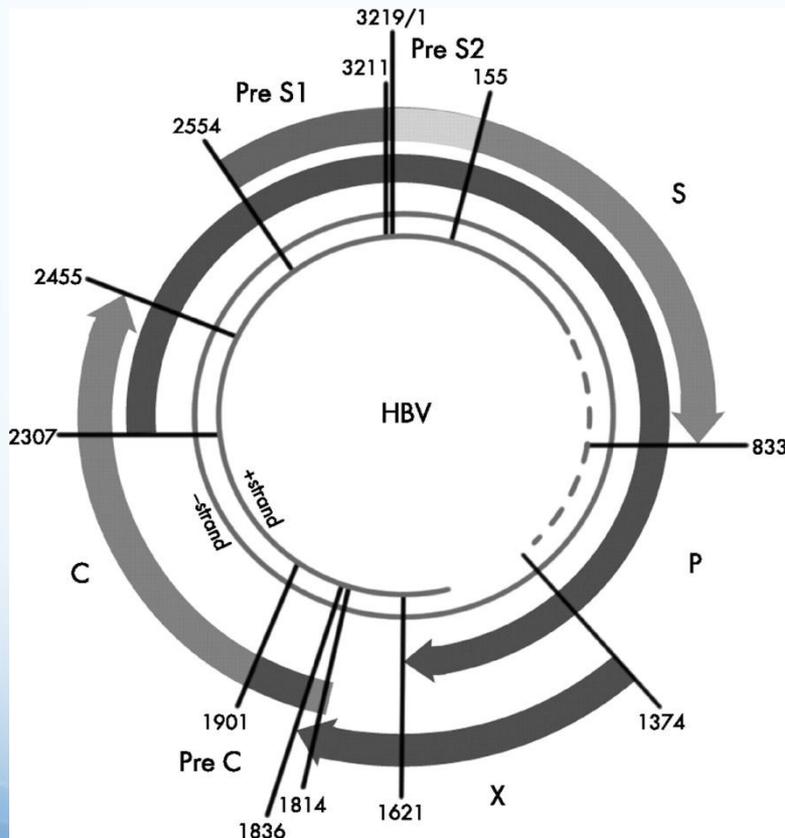
Филогенетический анализ участка core/E1 вируса гепатита С пациентов Ч-ва Евгения и С-вич, 1b и 3a генотипы ВГС)

HBV genotypes



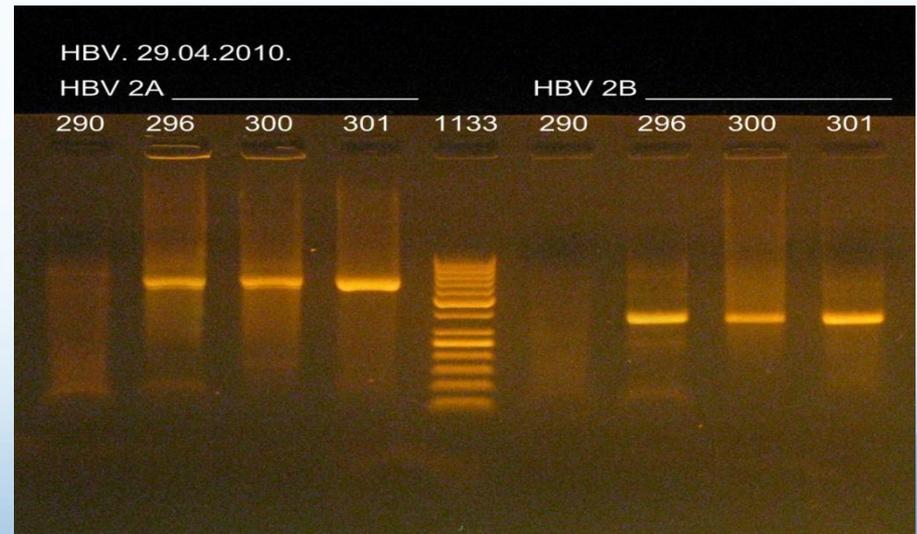
Schaefer S. Hepatitis B virus genotypes in Europe. *Hepatology Res* 2007;37:520-26.

Genome HBV and electrophoresis results of the amplification preS2 gene fragment

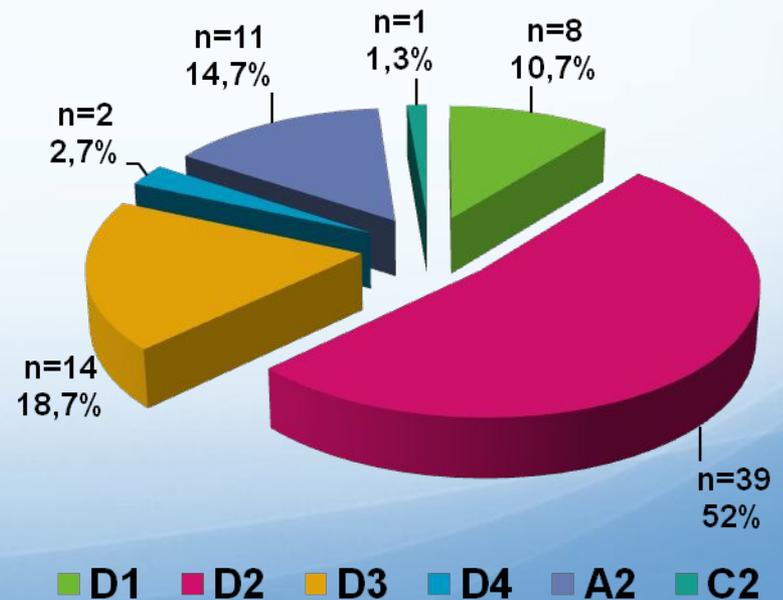
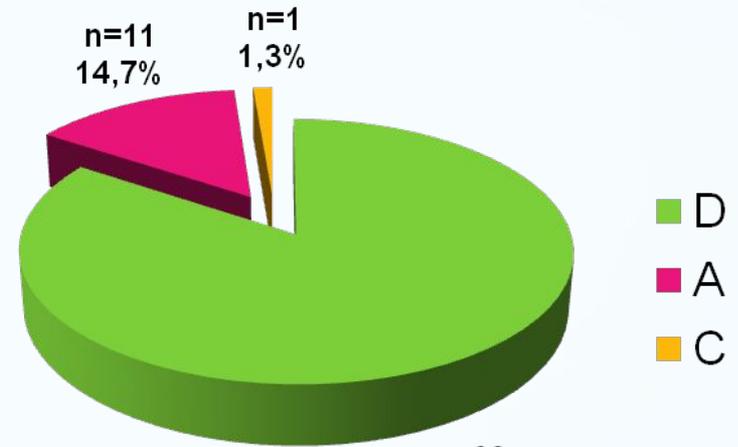
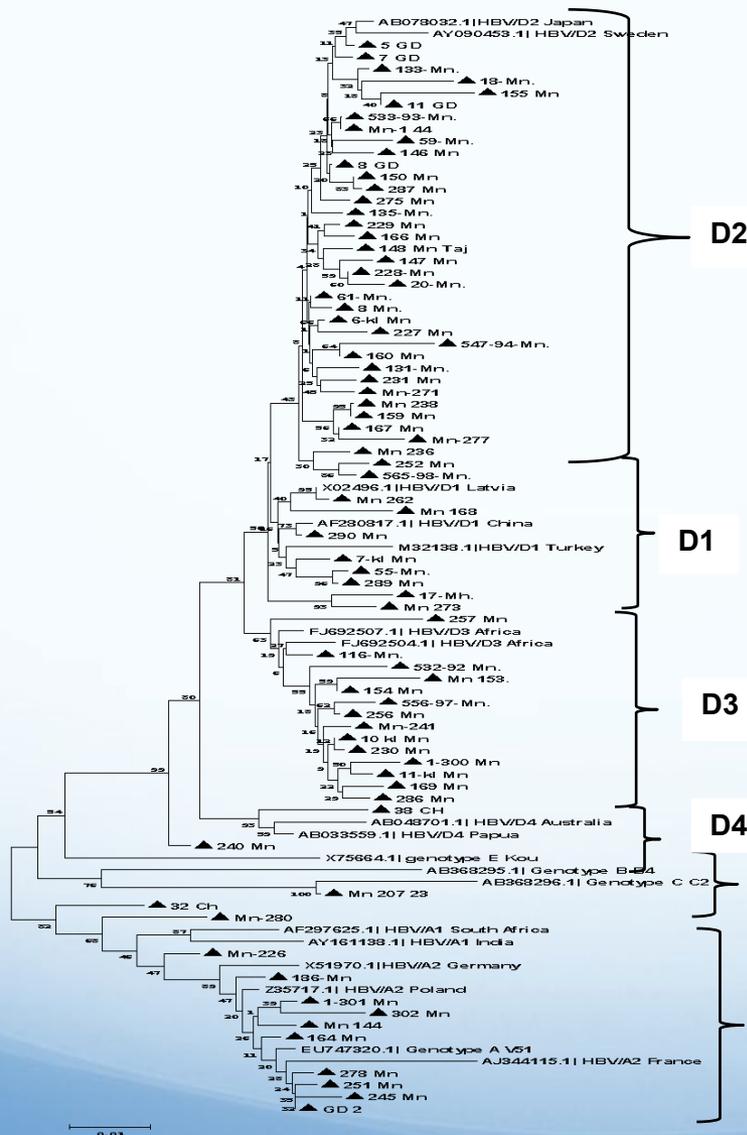


First round: fw Hep75 CCTGTAGGTGGCTCCAGTTC (56-75)
rw Hep 73B AGCCAGTGGGGGTTGCGTCAG (1187-1207)

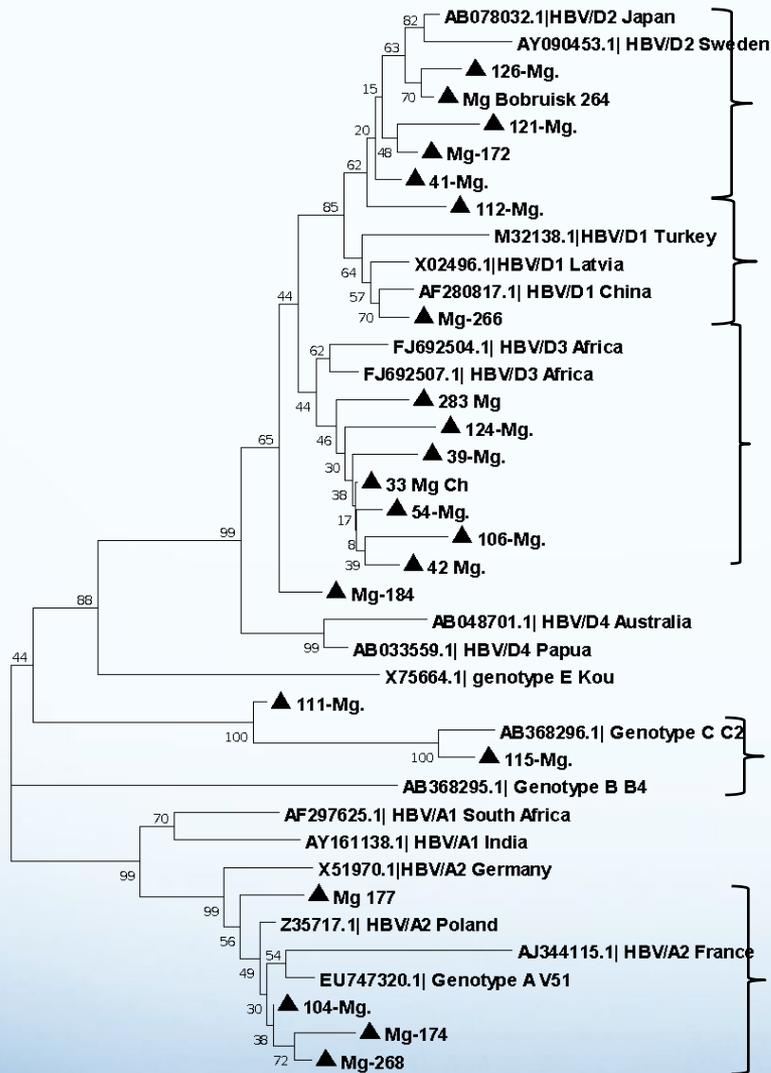
Second round: fw Hep33 AGGACTGGGGACCCTG (1-16)
rw Hep 3 CTCAAGCTTCATCATCCATATA (573-594)
fw Hep4 CTTGGATCCTATGGGAGTGG (489-509)
rw Hep34 ACTTTCCAATCAATAGG (841-857)



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



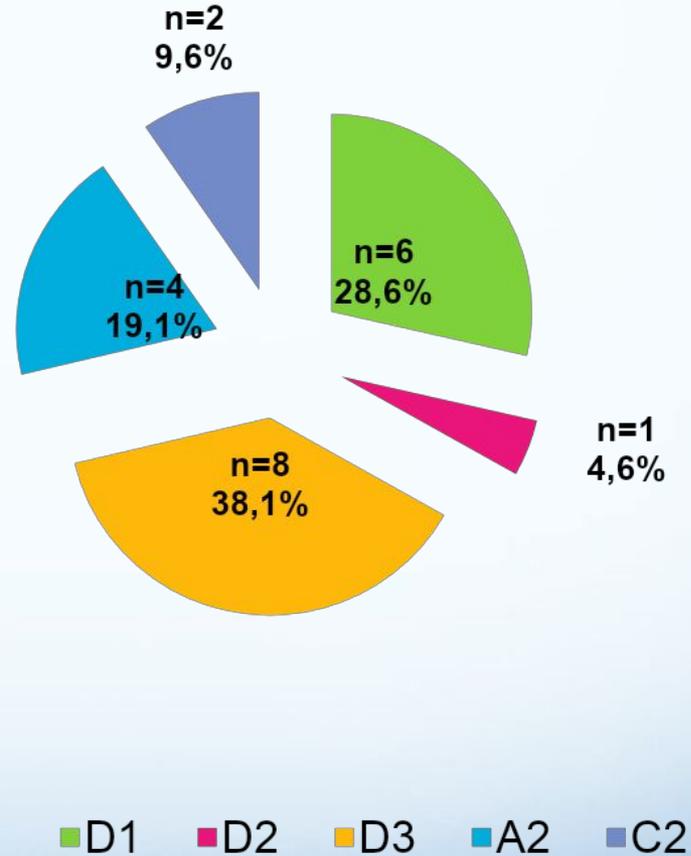
D2

D1

D3

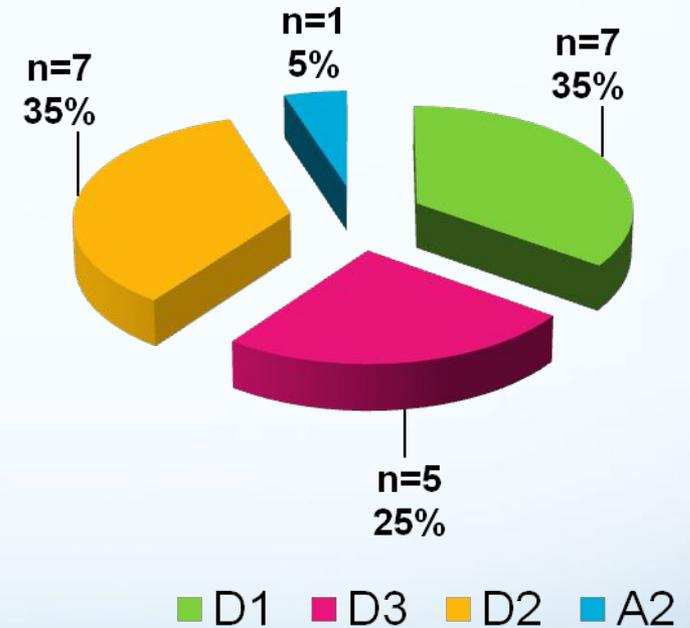
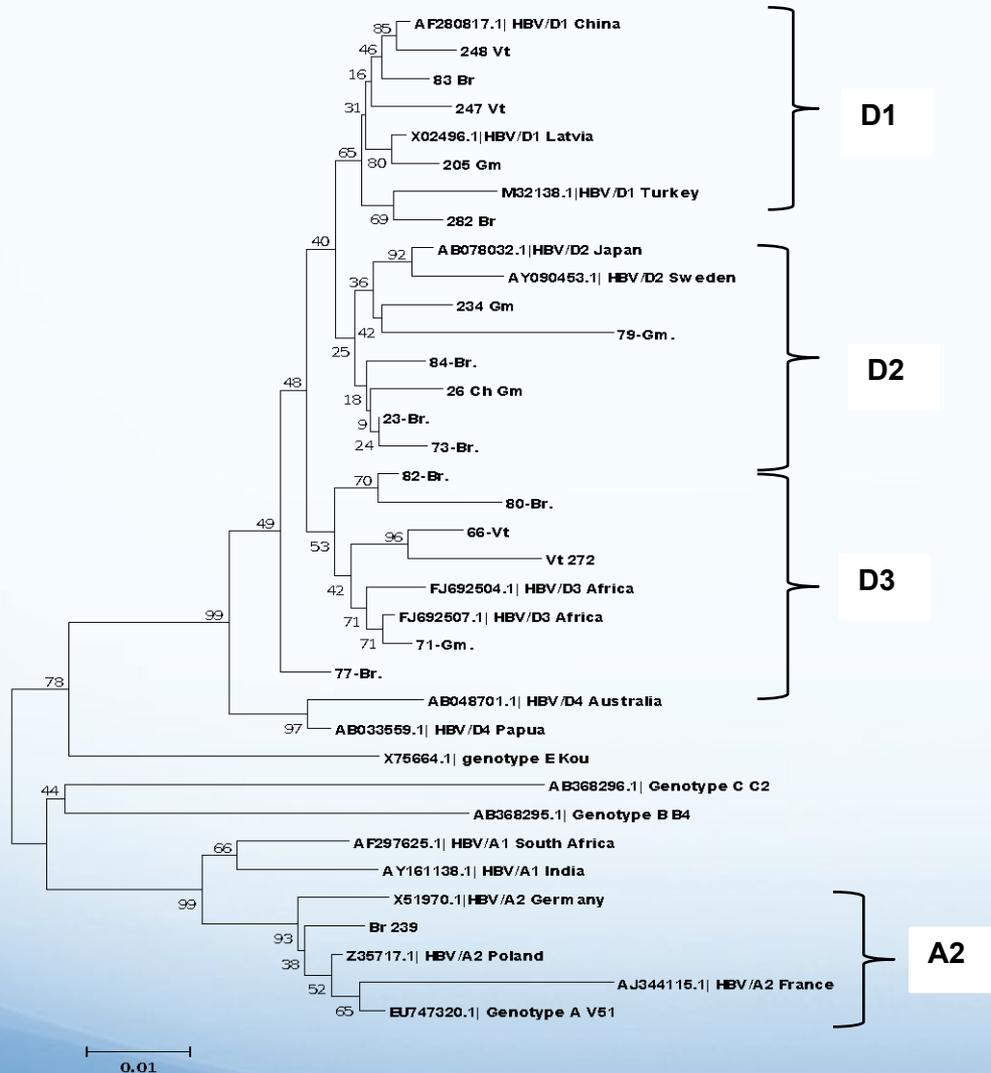
C2

A2

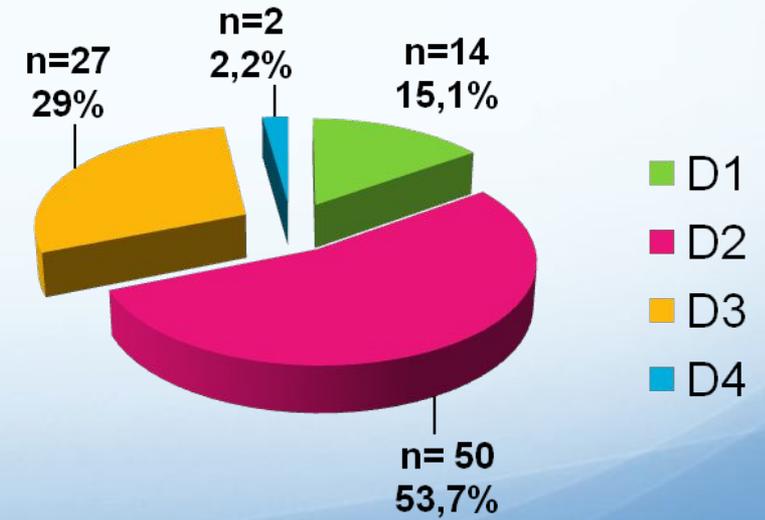
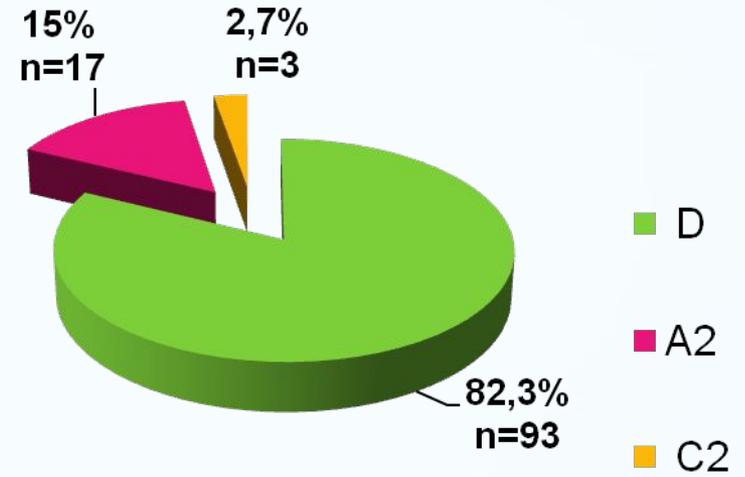
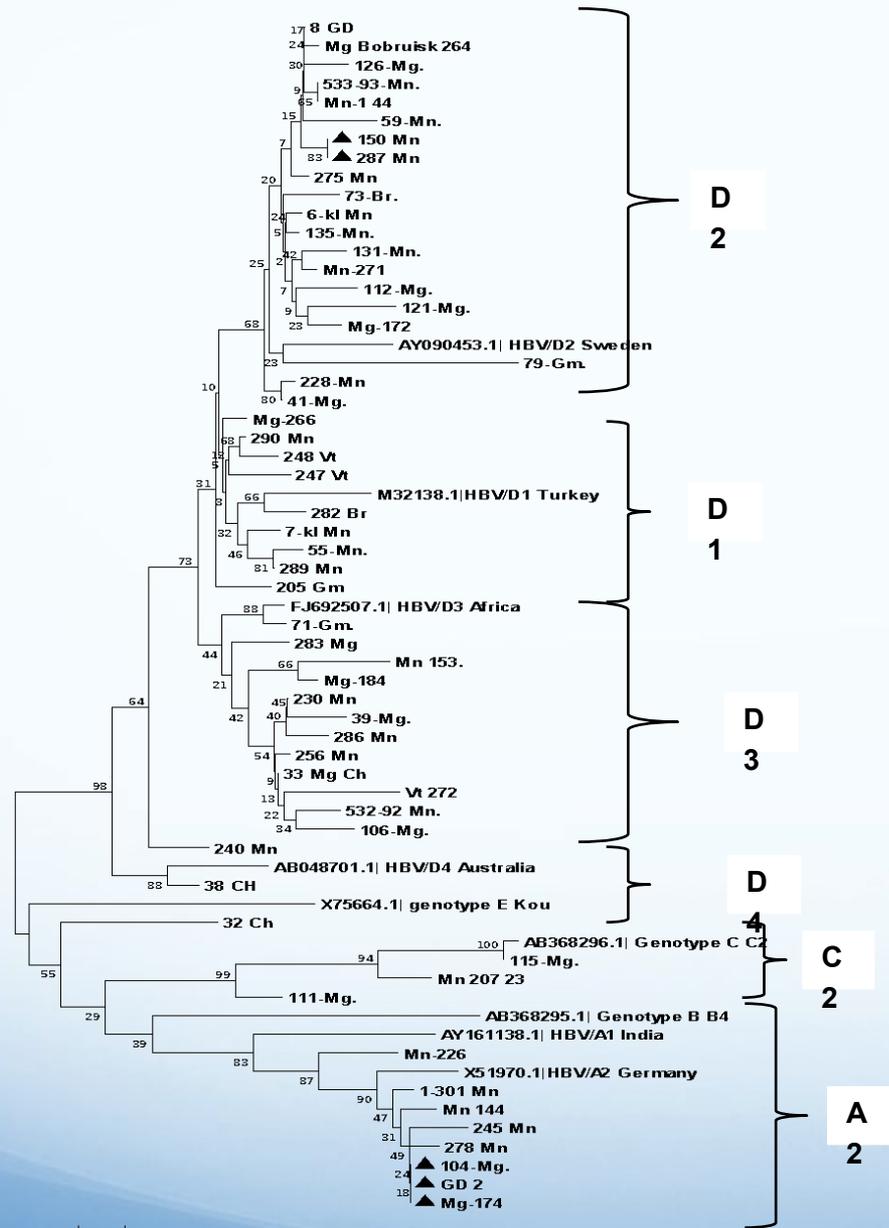


■ D1 ■ D2 ■ D3 ■ A2 ■ C2

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

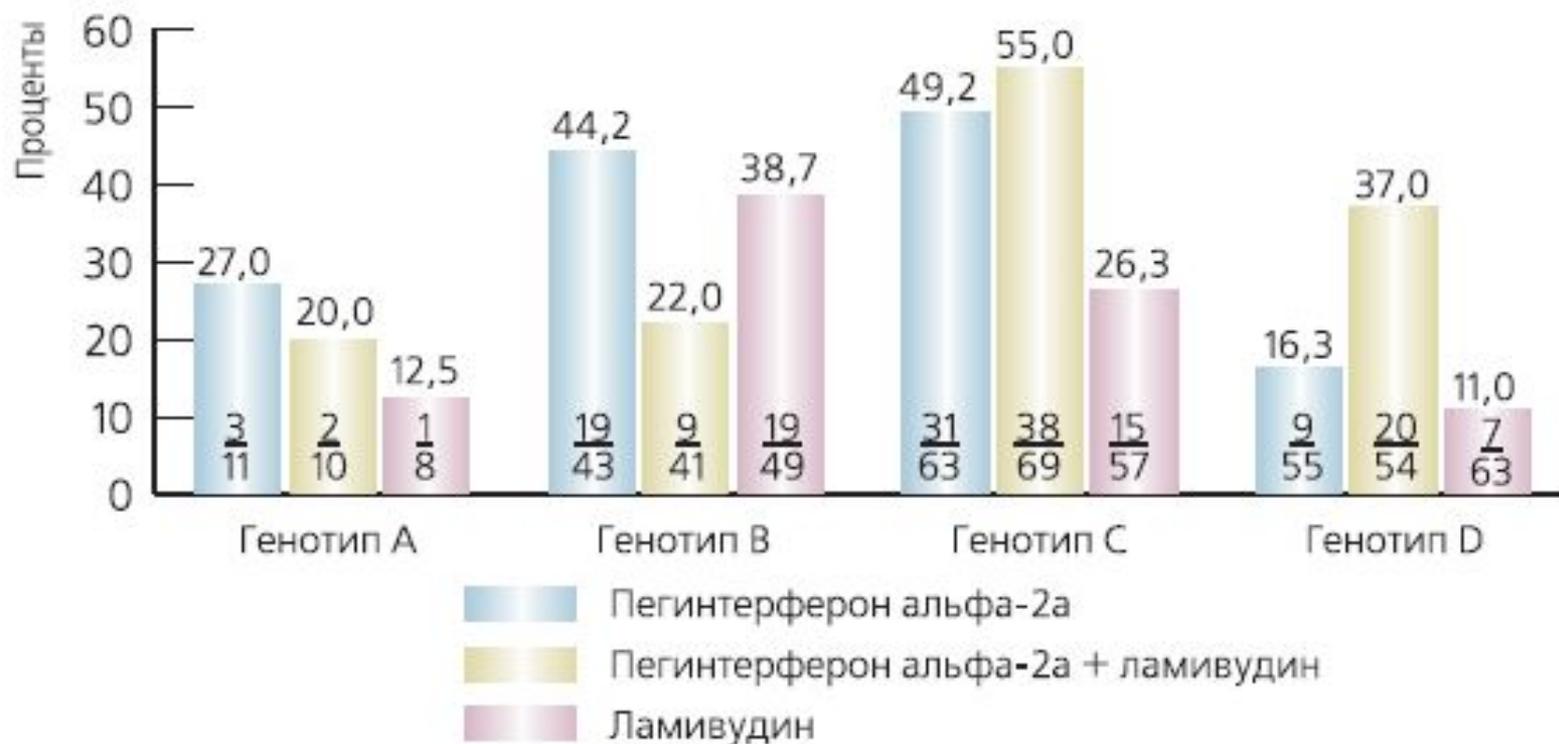


Phylogenetic analysis of HBV sequences from infected individuals in Belarus



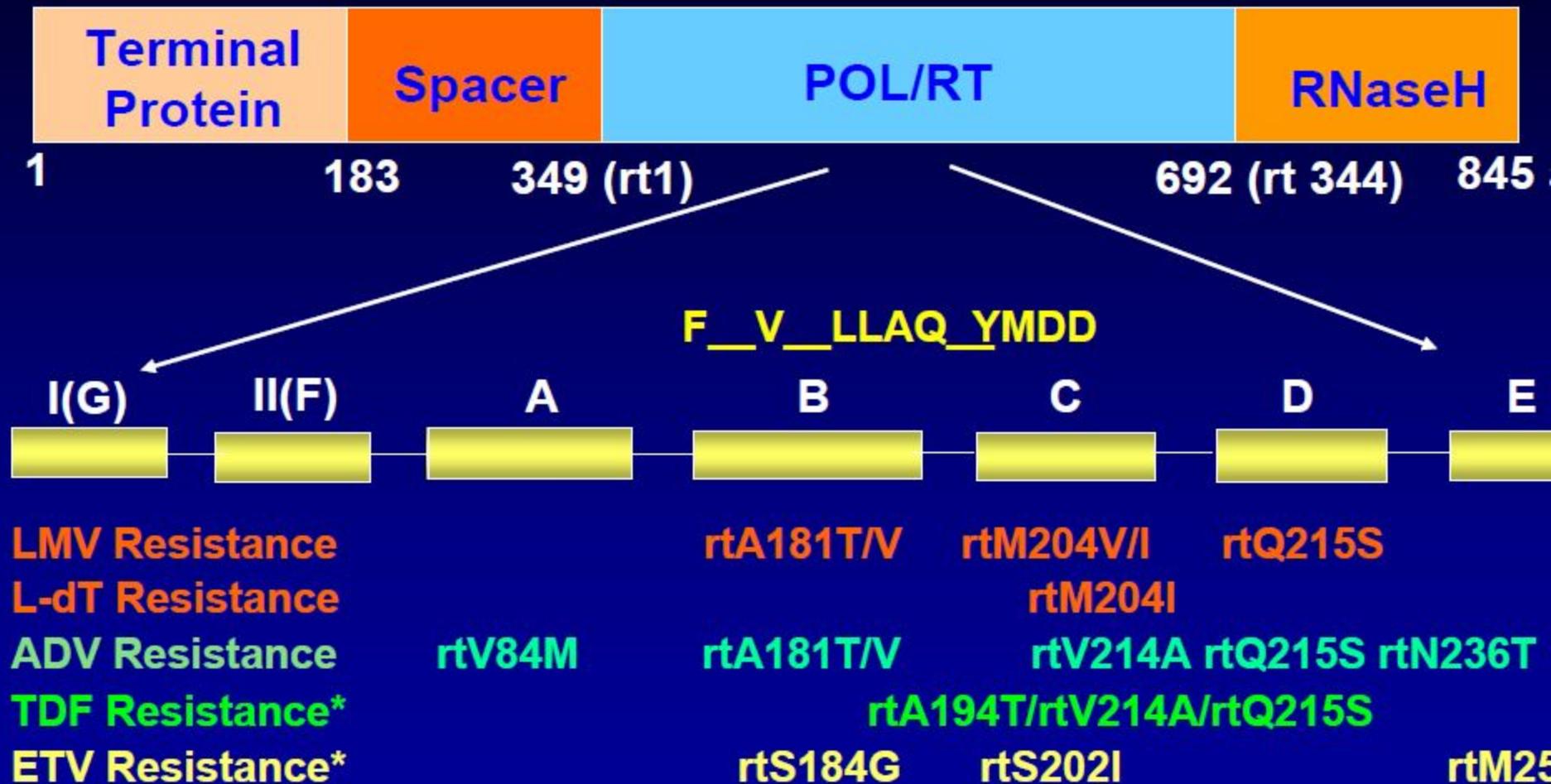
0.005

Влияние генотипов HBV на эффективность противовирусного лечения HBeAg-негативного ХГВ



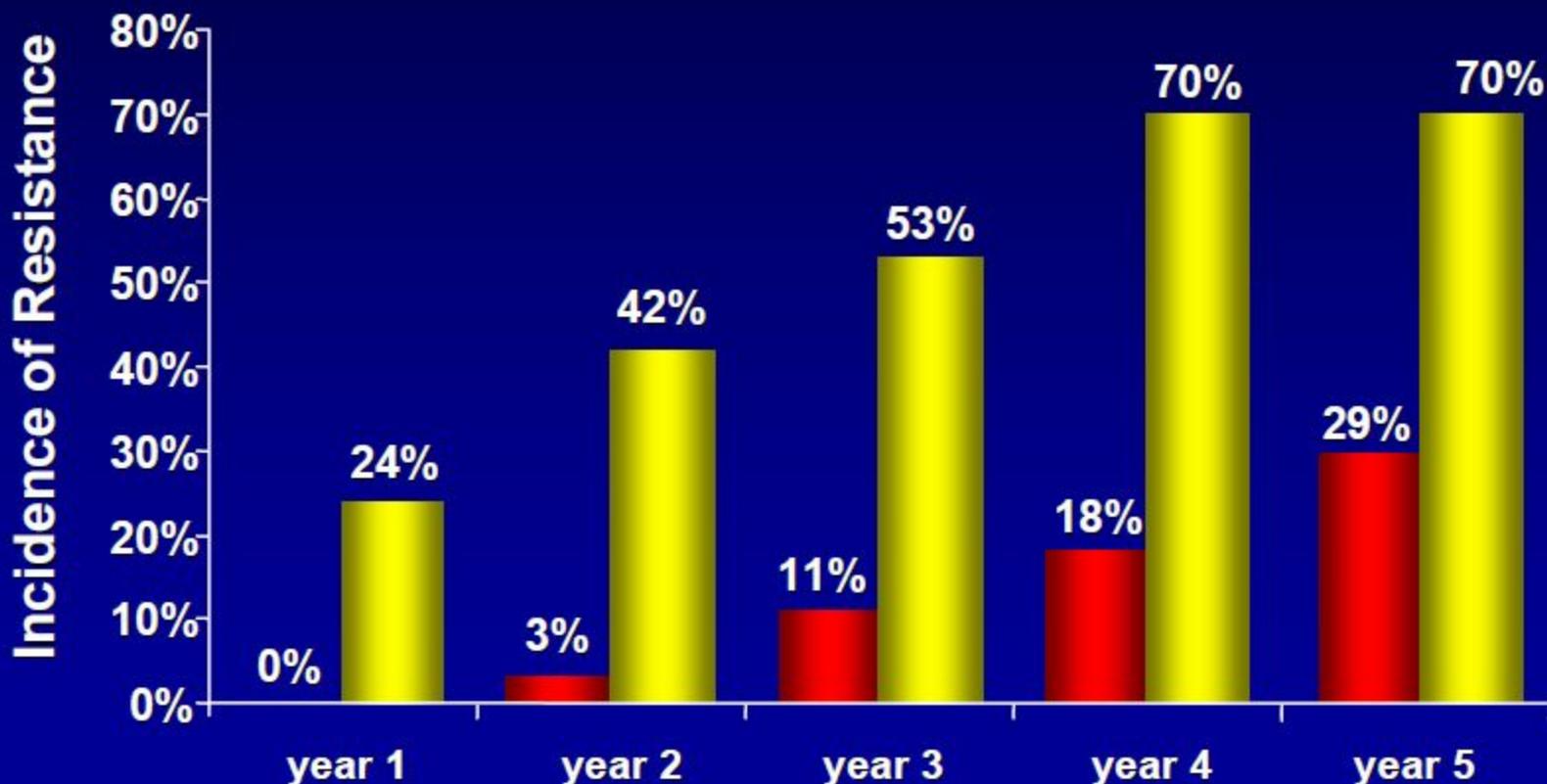
Примечание. В знаменателе дроби – количество пациентов, инфицированных тем или иным генотипом HBV, в числителе – количество пациентов, ответивших на терапию.

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

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

II. Замены оснований в доменах

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

III. Анализ резистентности

Препарат	Прогноз		Мутации
Ламивудин:	резистентный	R	180M, 204V, 181V
Адефовир	резистентный	R	181V
Энтекавир	чувствительный	S	180M, 204V
Тенофовир	чувствительный	S	none
Телбифудин	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

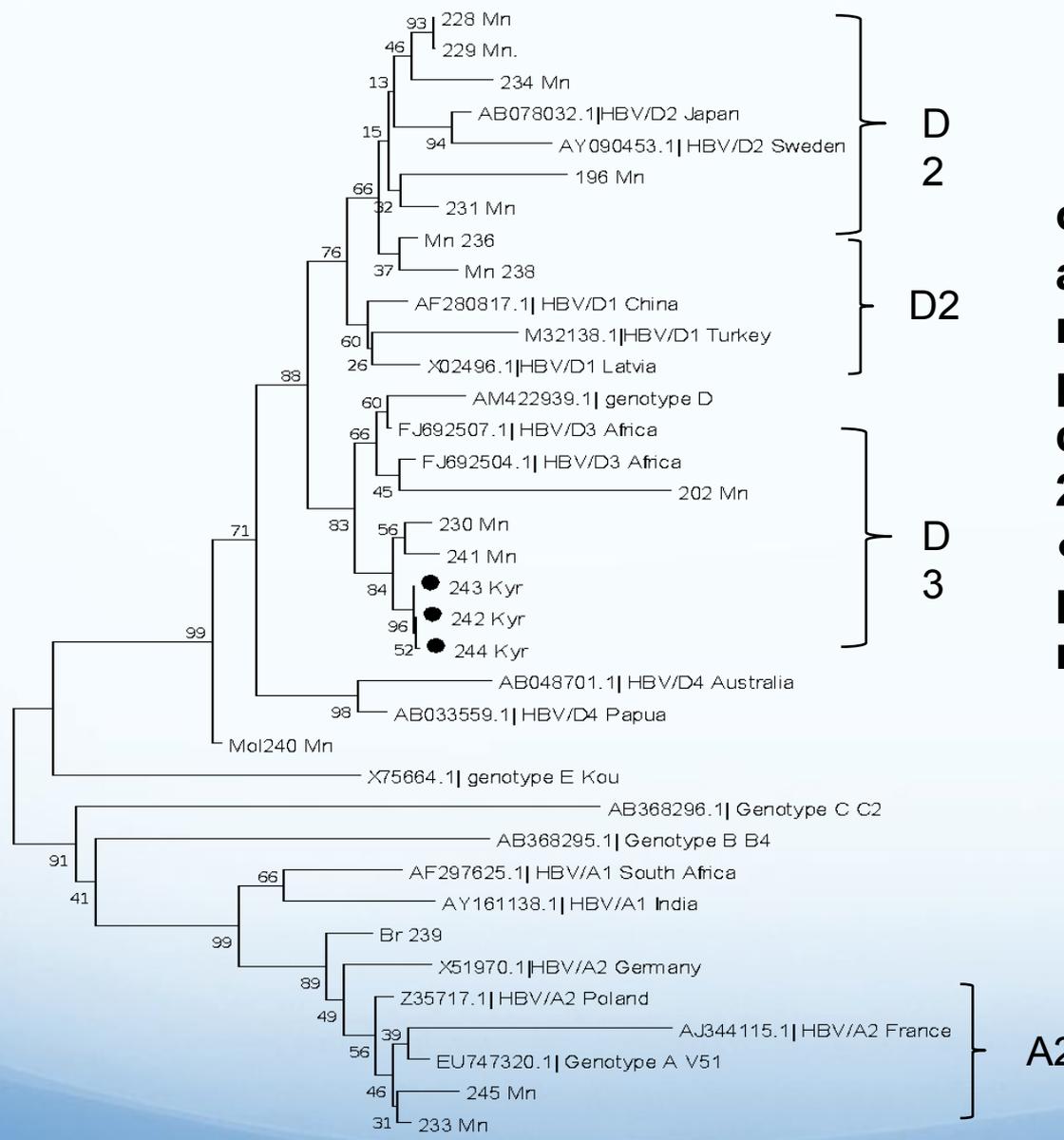
RT-домен	H126R, V173L, L180M, M204V, N238T, Y257F, E271
SHB-protein	T118A, E164D, I195
Выход:	

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

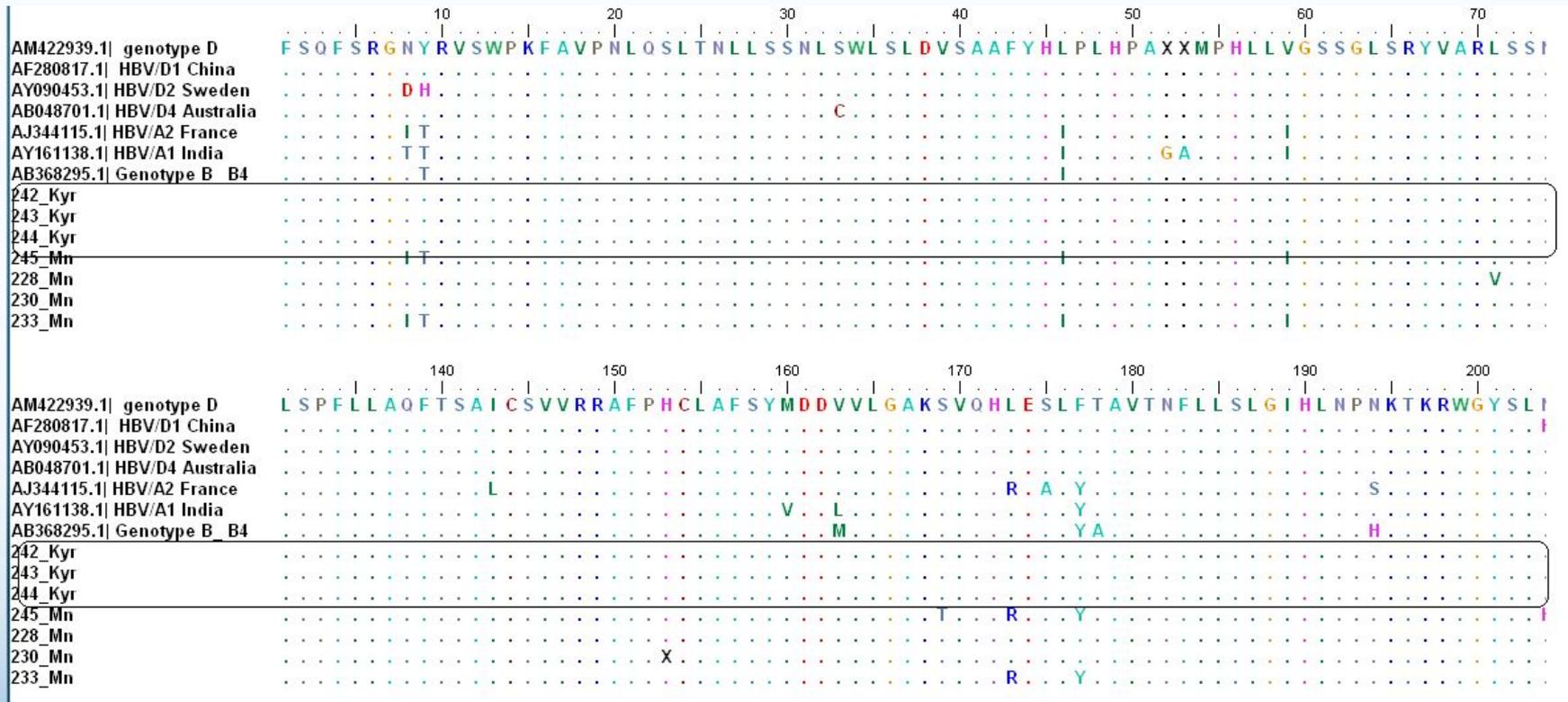
- Проведено исследование 3-х образцов сыворотки/плазмы крови, полученных от матери (№242, 1963 г.р.), сына (№243, 1993 г.р.) и дочери (№244, 1987 г.р.) с хронической формой ВГВ-инфекцией, проживающих в Кыргызстане

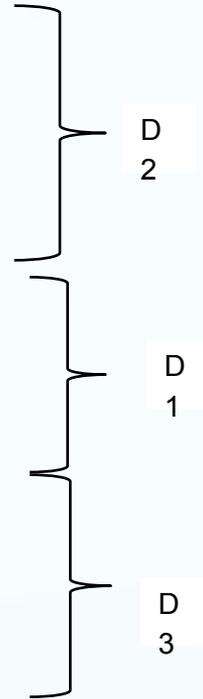
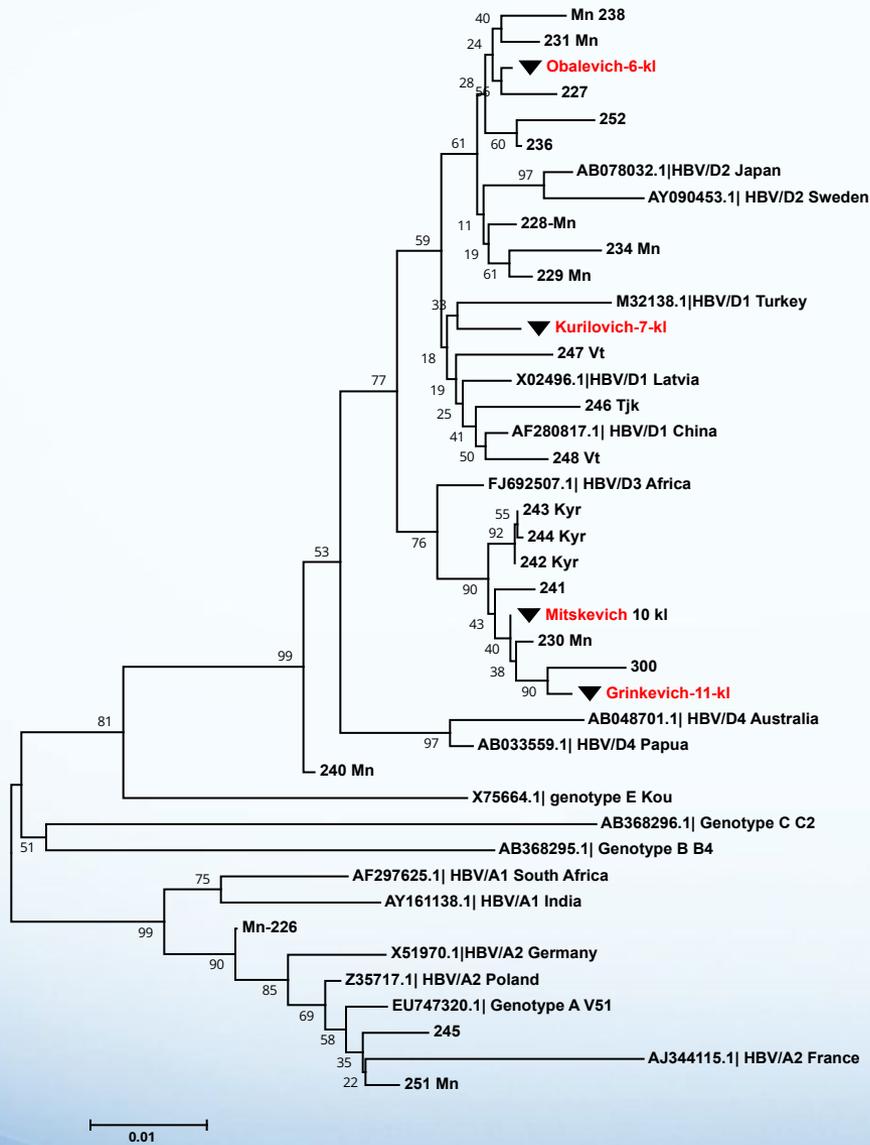


Филогенетический анализ нуклеотидных последовательностей pre-S гена гепатита В в семье (●242 – мама, ● 243- сын, ● 244 – дочь) и референсных последовательностей.

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

