

## الملخص العربي

- العدوى بفيروس التهاب الكبد البائي (بي) يؤدي إلى أعراض مرضية مختلفة، و على الرغم من توافر لقاح فعال لفيروس التهاب الكبد البائي (بي) العدوى لا يزال مشكلة عالمية للصحة العامة.

### المواد والأساليب

#### ١. جمع العينة:

١٠٠ عينة ايجابية لفيروس الالتهاب الكبدي الوبائي بي تم جمعها من حملات التبرع بالدم الخاصة بشركة خدمات نقل الدم (VACSERA). وكان جميع المرضى الذين شخضت حالاتهم من العدوى ليست لديهم عدوى مشتركة بفيروسات التهاب الكبد الأخرى مثل فيروس سي أو دلتا أو فيروس نقص المناعة البشرية.

- كل العينات تم تقسيمها وتخزينها على درجة حرارة -٢٠ سلزيوس حتى الاستخدام.

#### ٢. إستخلاص الحمض النووي:

- تم استخلاص وتنقية الحمض النووي لفيروس الالتهاب الكبدي الوبائي بي المستخرج وفقا لتعليمات بروتوكول أطقم التشخيص لاستخلاص الحمض النووي الفيروسي.

#### ٣. الإكثار من الجينات المستهدفة من الالتهاب الكبدي الوبائي بي (جين مستضد السطح و جين المنطقة الجوهريّة و قبل الجوهريّة):

- تم إكثار جين مستضد السطح وجين المنطقة الجوهريّة وقبل الجوهريّة عن طريق اجراء اختبار تفاعل البلمرة المتسلسل باستخدام البادئ لتكاثر الجين.

#### ٤. الكشف عن ناتج تفاعل البلمرة المتسلسل:

- تم الكشف عن ناتج تفاعل البلمرة المتسلسل عن طريق التفريد الكهربائي في ١ ٪ جل الاجاروز الممزوج بالاثيديم بروميد، وتم فحص الجل أجاروز باستخدام الأشعة فوق البنفسجية لرؤية ناتج تفاعل البلمرة المتسلسل بالمقارنة بضوابط ايجابية وسلبية.

#### ٥. استعادة ناتج تفاعل البلمرة المتسلسل من جل الاجاروز:

- تم استعادة ناتج تفاعل البلمرة المتسلسل من جل الاجاروز بعد فصله عن طريق التفريد الكهربائي من خلال ١ ٪ جل الاجاروز وفقا لبروتوكول أطقم التشخيص الخاصة بالاستعادة من جل الأجاروز.

#### ٦. تسلسل جين مستضد السطح وجين المنطقة الجوهريّة وقبل الجوهريّة:

- الأجزاء التي تم إكثارها من الحمض النووي لفيروس التهاب الوبائي الكبدي بي تمت معرفة تسلسله النيكلوتيدي باستخدام أطقم التشخيص الخاصة بدورة التسلسل ABI 310 DNA automated sequencer (Applied Biosystems).

#### ٧. إزالة النيكلوتيدات المصبوغة الغير مرتبطة:

تم استخدام أطقم التشخيص ( DyeEx purification Kit ) لإزالة كل النيكلوتيدات المصبوغة الغير مرتبطة مباشرة من تفاعل التسلسل النيكلوتيدي، كما تم عمل خطوات إزالة بقايا الصبغة.

#### ٨. نتائج التسلسل و التحليل المعلوماتي الإحيائي:

##### ٨.١. إعداد و تحميل العينات لعمل التسلسل:

تم عمل التسلسل في قسم بحوث الهندسة الوراثية بالشركة القابضة للمستحضرات الحيوية واللقاحات (VACSERA)، حيث تم عمل التفريد الكهربائي علي جهاز التحليل الجيني (ABI Prism 310 Genetic Analyzer)، باستخدام مجموعة قاعدة البيانات المحملة علي الجهاز بالجهاز (ABI Prism 310 data base collection)

##### ٨.٢. تجميع التسلسل والشجرة الجينية:

- ما تم الحصول عليه من نتائج التسلسل الأمامي و العكسي تم تحليلها باستخدام برنامج تحليل التسلسل المثبت على الجهاز (sequencing analysis5.3.1)

تم عمل مطابقة للتسلسل للمقارنة بين تسلسل الجين المستضد السطحي وتسلسل الجين الجوهري لثمان عزلات لفيروس التهاب الكبدي الوبائي بي موجودة ببنك الجينات باستخدام لوغريتمات المطابقة المتعددة لبرنامج الـ Megalign Window DNASTAR,

version 3.12e).

### يمكن تلخيص النتائج كما يلي

تم تشخيص ثلاث فيروسات متحورة في الجين المستضد السطحي لفيروس التهاب الكبد الوبائي بى HBV ، حيث تم عزل الفيروسات المتحورة من مرضي عند تحليل عينات الدم المأخوذة منهم أعطت نتائج ايجابية للجين المستضد السطحي ( HBsAg ) إلا انه لا تبدو عليهم أعراض المرض.

تم نسب الفيروسات المتحورة الثلاثة إلى فيروس التهاب الكبد الوبائي بى نوع جينى (د) لتؤكد ان النوع الجيني لفيروس التهاب الكبد الوبائي بى الأكثر شيوعا في مصر هو نوع جينى (د) . كما تم عمل تسلسل لجين الجوهري لعزلة واحدة لفيروس التهاب الكبد الوبائي بى و التي نسبت أيضا إلى النوع الجيني (د).

و قد تساعد هذه النتائج في الوصول إلى مصل جديد لفيروس التهاب الكبد الوبائي بى لمعالجة الفيروسات المتحورة ذات الطفرات الجديدة، و التي لابد ستطلب علاجات جديدة، و لقاحات جديدة و خطة علاج جديدة لتكون التحدي الرئيسي للمحو التام لعدوي التهاب الكبد الوبائي بمصر.