

الملخص العربي

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

المواد والأساليب

١. جمع العينة:

١٠٠ عينة ايجابية لفيروس الالتهاب الكبدي الوبائى بى تم جمعها من حملات التبرع بالدم الخاصة بشركة خدمات نقل الدم (VACSER). وكان جميع المرضى الذين شخصت حالاتهم من العدوى ليست لديهم عدوى مشتركة بفيروسوت 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 الوبائى بى المستخرج وفقا لتعليمات بروتوكول أطم التخخيص لاستخلاص الحمض النووي الفيروسي.

٣. الإكثار من الجينات المستهدفة من الالتهاب الكبدي الوبائى بى (جين مستضد السطح و جين المنطقة الجوهرية و قبل الجوهرية):

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

٤. الكشف عن ناتج تفاعل البلمرة المتسلسل:

- تم الكشف عن ناتج تفاعل البلمرة المتسلسل عن طريق التفرييد 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 التفريغ الكهربائي من خلال ١٪ جل الاجاروز وفقا لبروتوكول أطعم التشخيص الخاصة بالاستعادة من جل الأجاروز.

٦. تسلسل جين مستضد السطح وجين المنطقة الجوهرية قبل الجوهرية:

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

٧. إزالة النيكلوتيدات المصبوغة الغير مرتبطة:

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

٨. نتائج التسلسل و التحليل المعموماتي الإحيائى:

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 التفريغ الكهربائي على جهاز التحليل الجيني (ABI Prism 310 Genetic Analyzer)، باستخدام مجموعة قاعدة البيانات المحمولة على 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 analysis 5.3.1)

تم عمل مطابقة للتسلسل للمقارنة بين تسلسل الجين المستضد السطحي وتسلسل الجين الجوهرى لثمان عزلات لفيروس الالتهاب الوبائي بي موجودة بينك الجينات باستخدام لوغریتمات المطابقة المتعددة لبرنامج Megalign — DNASTAR, Window

version 3.12e).

يمكن تلخيص النتائج كما يلى

تم تشخيص ثلاث فيروسات متحورة في الجين المستضد السطحي لفيروس الالتهاب الكبدي الوبائي بي HBV ، حيث تم عزل الفيروسات المتحورة من مرضى عند تحليل عينات الدم المأخوذة منهم أعطت نتائج ايجابية للجين المستضد السطحي (HBsAg) إلا انه لا تبدوا عليهم أعراض المرض.

تم نسب الفيروسات المتحورة الثلاثة إلى فيروس التهاب الكبدي الوبائي بي نوع جيني (d) لتأكد ان النوع الجيني لفيروس الالتهاب الكبدي الوبائي بي الأكثر شيوعا في مصر هو نوع جيني (d) . كما تم عمل تسلسل لجين الجوهر لعزلة واحدة لفيروس الالتهاب الكبدي الوبائي بي و التي نسبت أيضا إلى النوع الجيني (d).

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