Epidemiologia Molecular de Hepatite B e C

Lia Laura Lewis-Ximenez, MD, PhD

Laboratório de Hepatites Virais

Instituto Oswaldo Cruz

Fundação Oswaldo Cruz

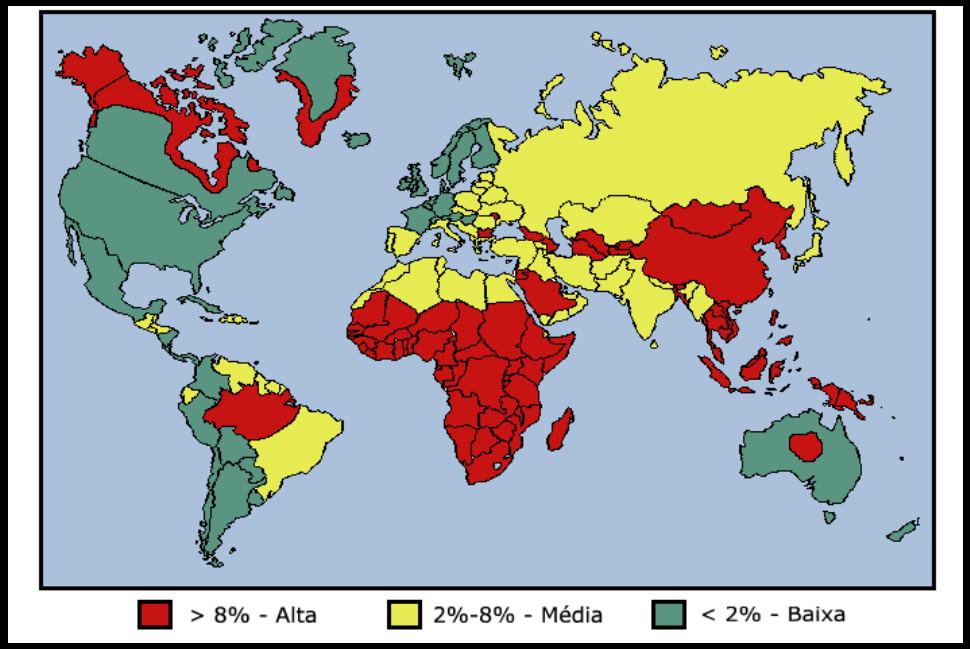
Ministério da Saúde

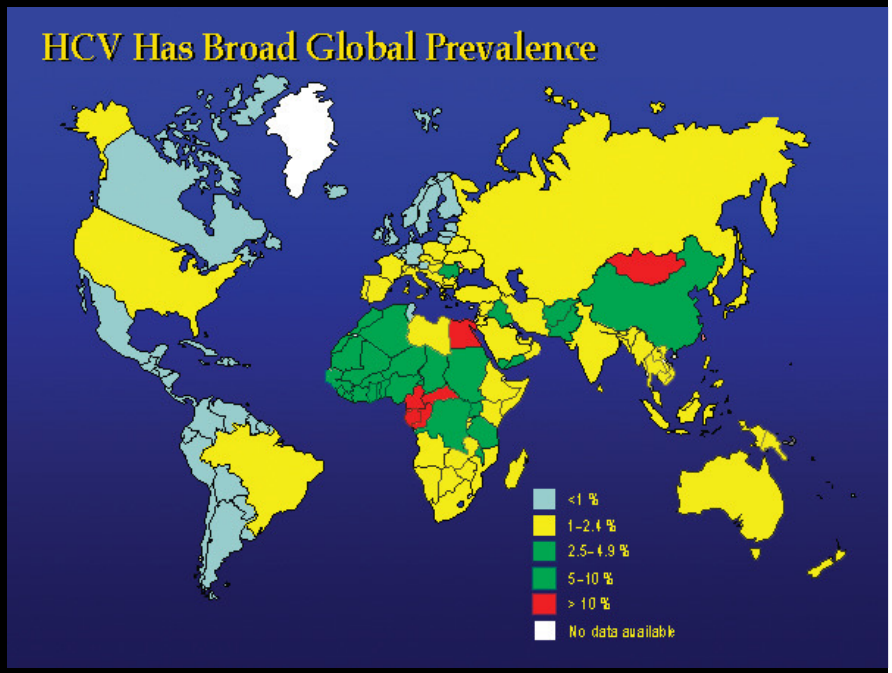
Rio de Janeiro, Brasil

llewis@ioc.fiocruz.br

FIOCRUZ

Distribution of HBV (HBsAg) e HCV (anti-HCV)





> 350 milhões (WHO 2008)

123 - 170 milhões (WHO 2004)

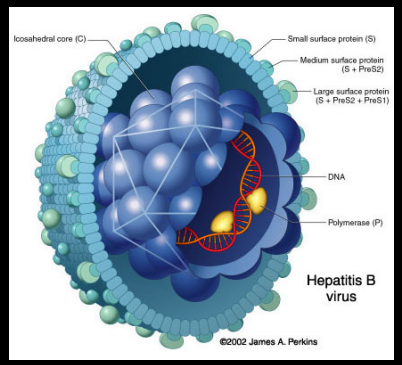
~ 500 milhões

8% da população mundial

FIOCRUZ

Biologia dos Vírus da HBV e HCV

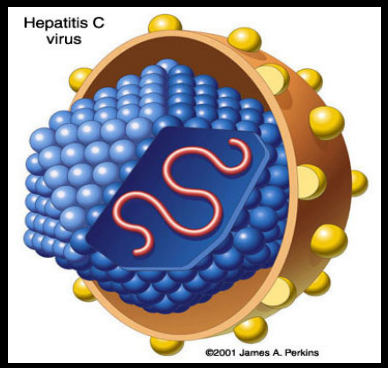
HBV



Família *Hepadnaviridae*
Genus *Orthohepadnavirus*

- vírus envelopado
- genoma DNA circular parcialmente duplo
- ~ 3200 nucleotídeos
- 1 mutação por 100.000.000 nt/cr
- 10^4/substituições de nt/ano

HCV



Família *Flaviviridae*
Genus *Hepacivirus*

- vírus envelopado
- genoma de RNA
- ~ 9600 nucleotídeos
- 1 mutação por 1.000 – 100.000 nt/cr
- 10^6 - 10^7/substituições de nt/ano

Diversidade Genética

HBV

Genótipo
3000 anos
> 8% de divergência
A - H

Subtipo
4% de divergência
A: 1, 2, 3, 4, 5
B: 1, 2, 3, 4
C: 1, 2, 3, 4
D: 1, 2, 3, 4, 5
E:
F: 1, 2, 3, 4, 5
G:
H:

HCV

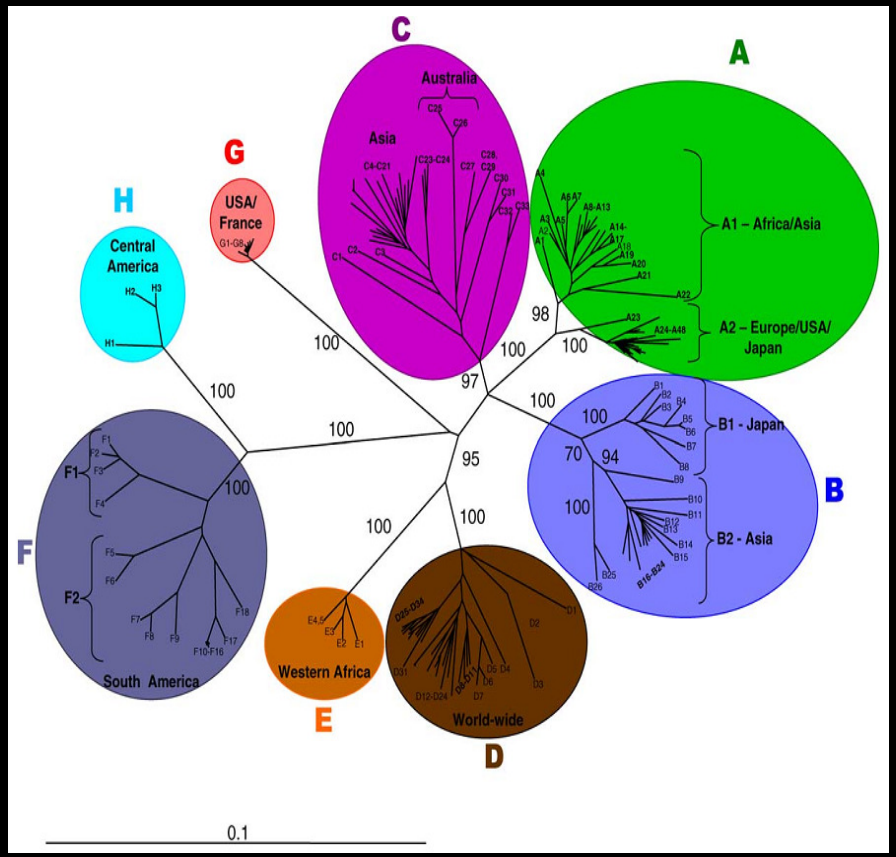
500-2000 anos
> 30% de divergência
1 - 6

20-30% de divergência
1: a, b, c, d, ...m
2: a, b, c, d, ...r
3: a, b, c, d, ...l
4: a, b, c, d, ...t
5: a
6: a, b, c, d, ...u

Simmonds P, 2005

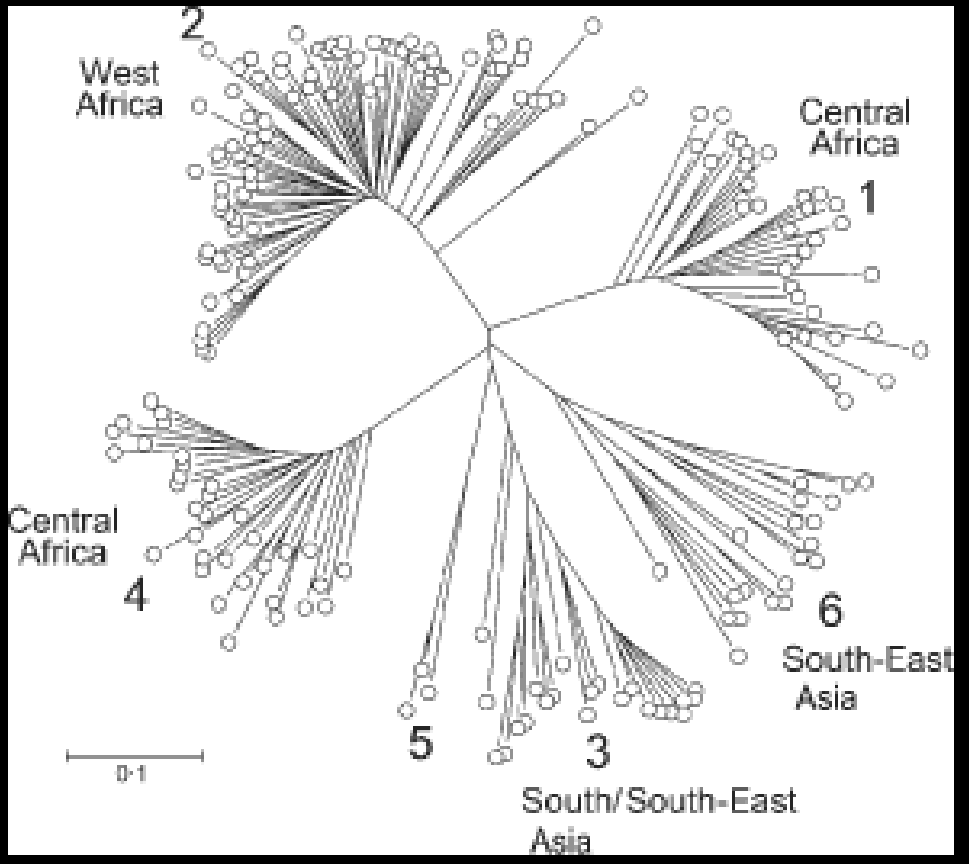
Heterogeneidade dos genomas do HBV e HBV

HBV



Árvore filogenética de 175 sequências do genoma completo do HBV representando os 8 genótipos (Kramvis *et al.*, 2005)

HCV

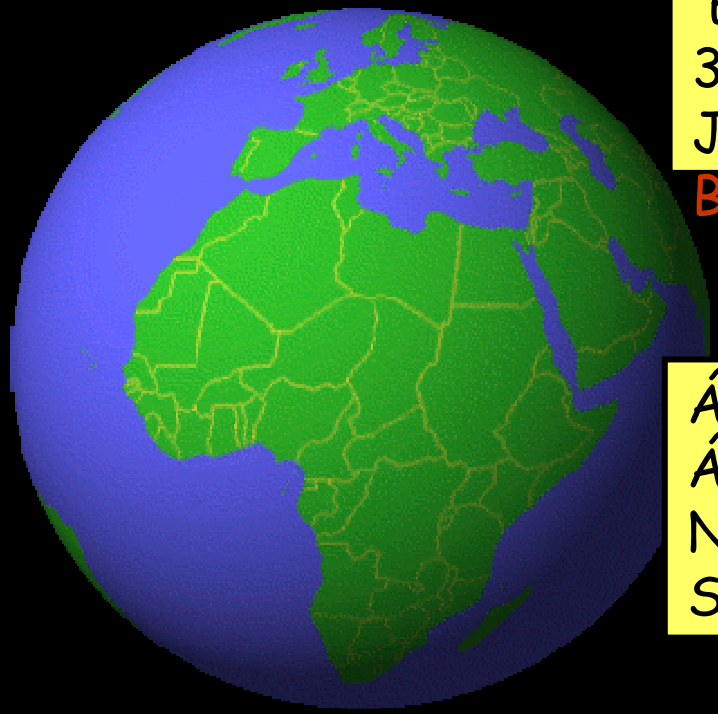


Árvore filogenética de sequências do genoma completo do HCV representando os 6 genótipos (Simmonds, 2004)

Relevância

1. Distribuição geográfica – eventos migratórios
2. Vias de transmissão
3. Curso clínico da doença
4. Preditor de resposta terapeutica

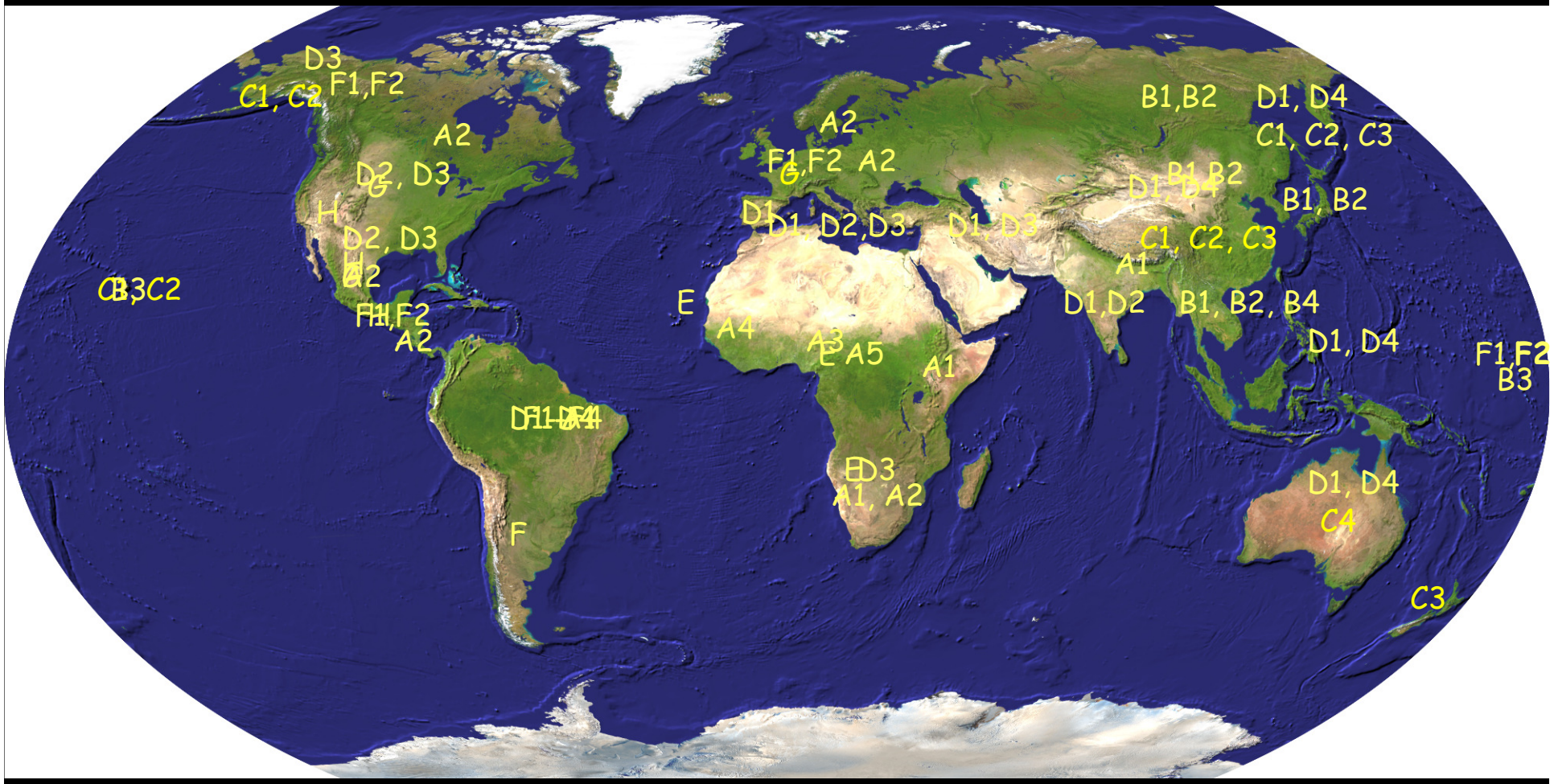
Características de Distribuição Geográfica



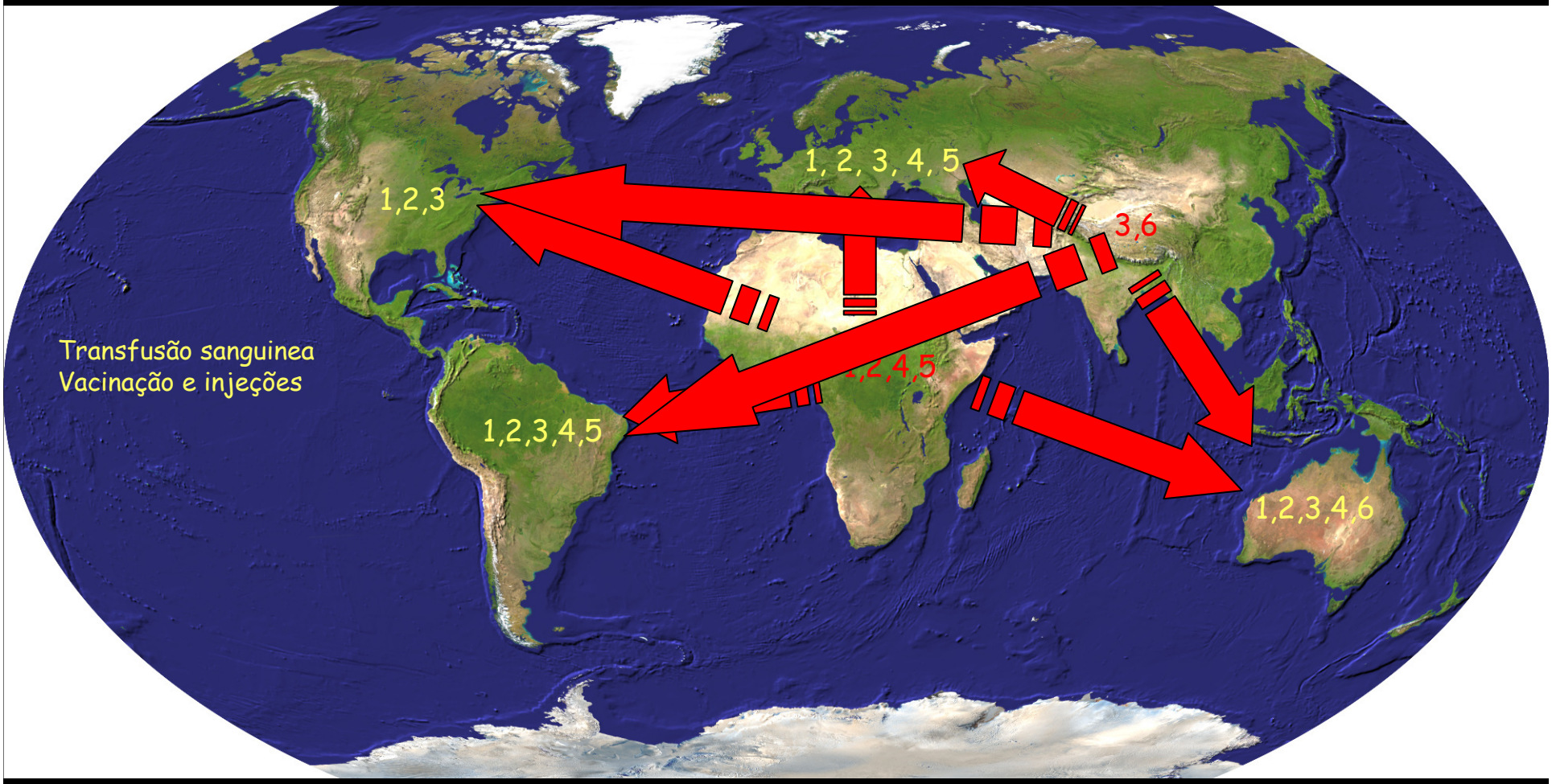
Europa e América do Norte- tipo 1a/b, 2a, 3a
Japão 1b, 2a, 2b
Brasil-

África Central- gen 4 (4a, 4b,4c,4d,4e,etc)
África Ocidental - gen 2 (2a,2b,2c,2d,2e,etc)
Noroeste Índia- gen 3 (3a, 3b,3c, 3d etc)
Sudoeste Ásia- gen 6 (6a, 6b,6c,6d,etc)

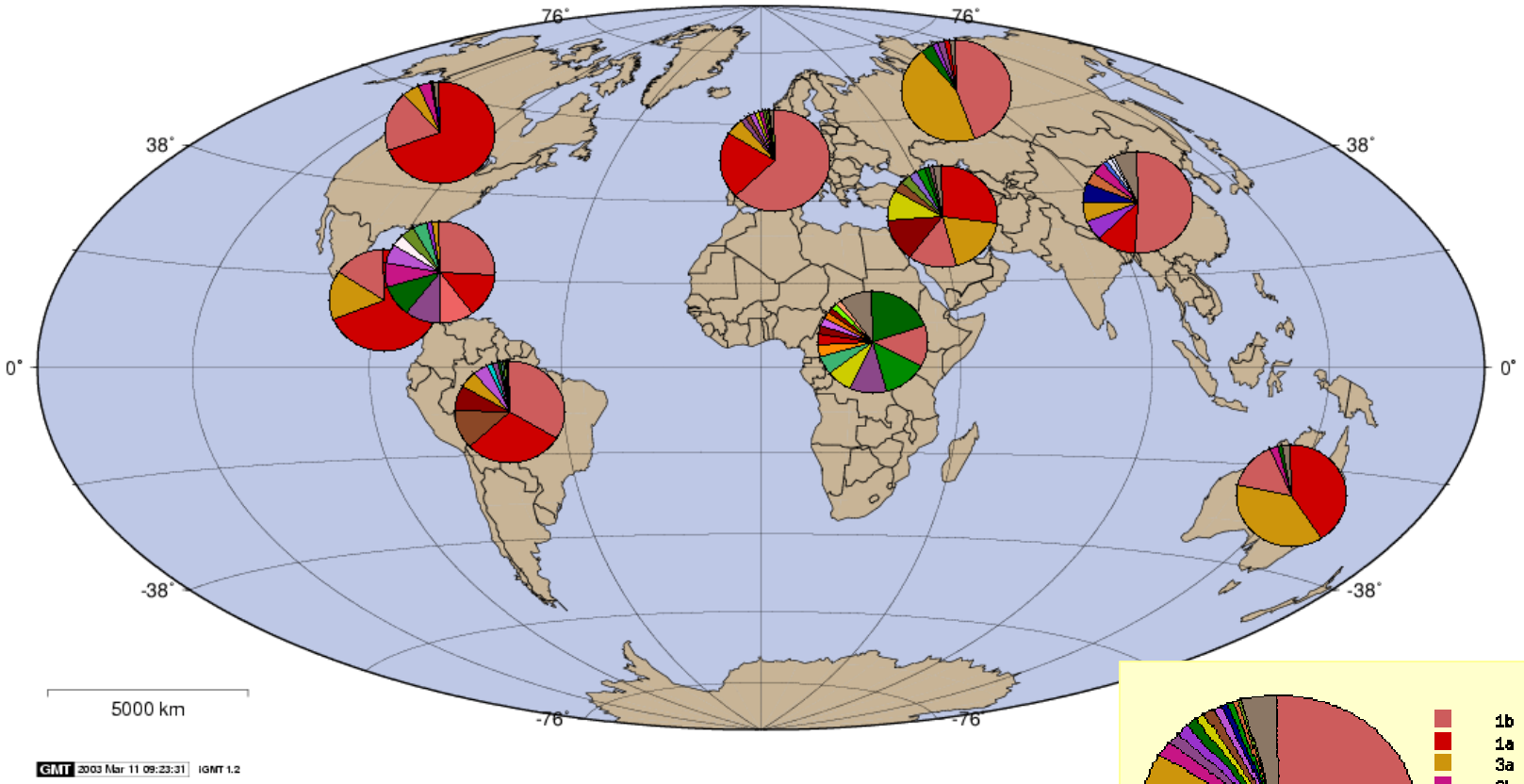
Distribuição Mundial de HBV por Genótipo

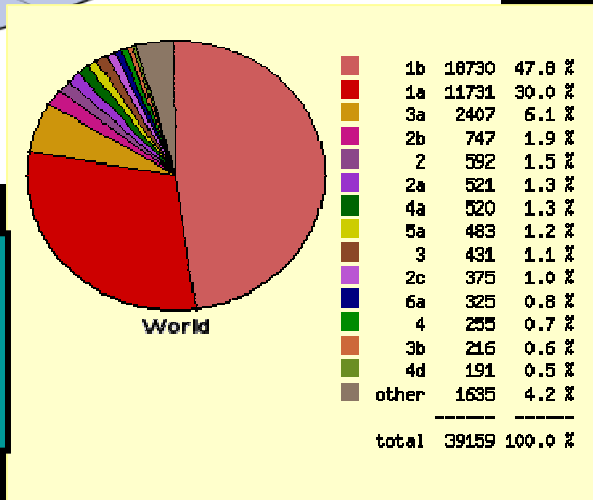


Distribuição Mundial de HCV por Genótipo



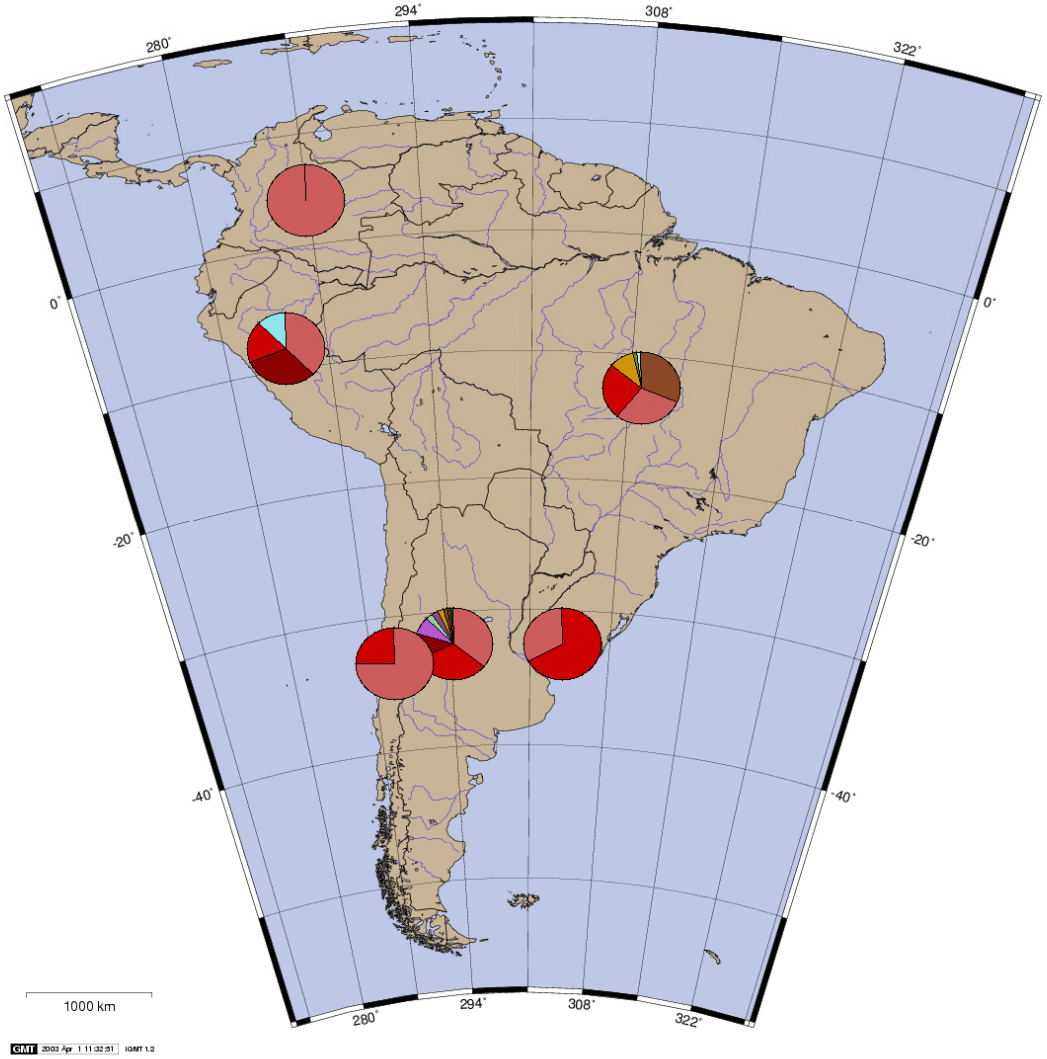
Distribuição mundial dos genótipos do HCV: seqüenciamento

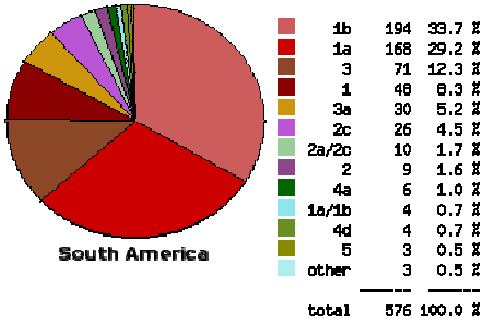




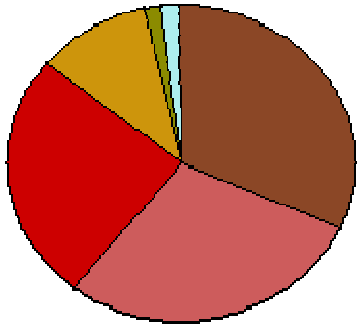
Dados da divergência dos genótipos podem ajudar a explicar várias características da distribuição geográfica do HCV

Distribuição dos genótipos Brasil: seqüenciamento





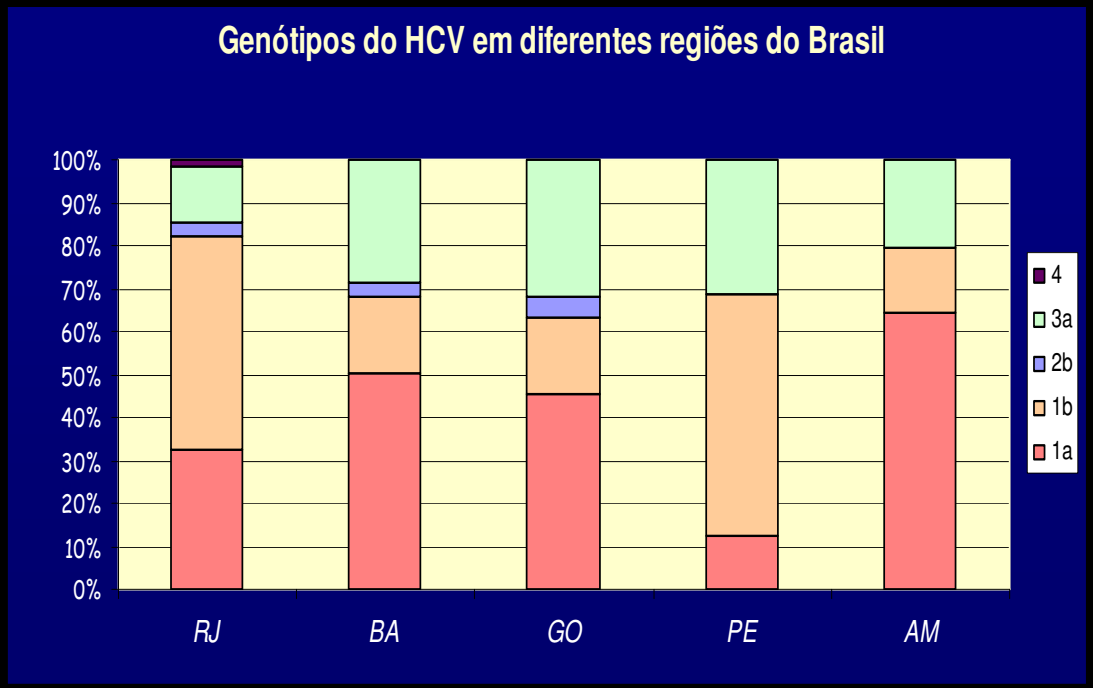
1b	194	33.7 %
1a	168	29.2 %
3	71	12.3 %
1	48	8.3 %
3a	30	5.2 %
2c	26	4.5 %
2a/2c	10	1.7 %
2	9	1.6 %
4a	6	1.0 %
1a/1b	4	0.7 %
4d	4	0.7 %
5	3	0.5 %
other	3	0.5 %
total	576	100.0 %

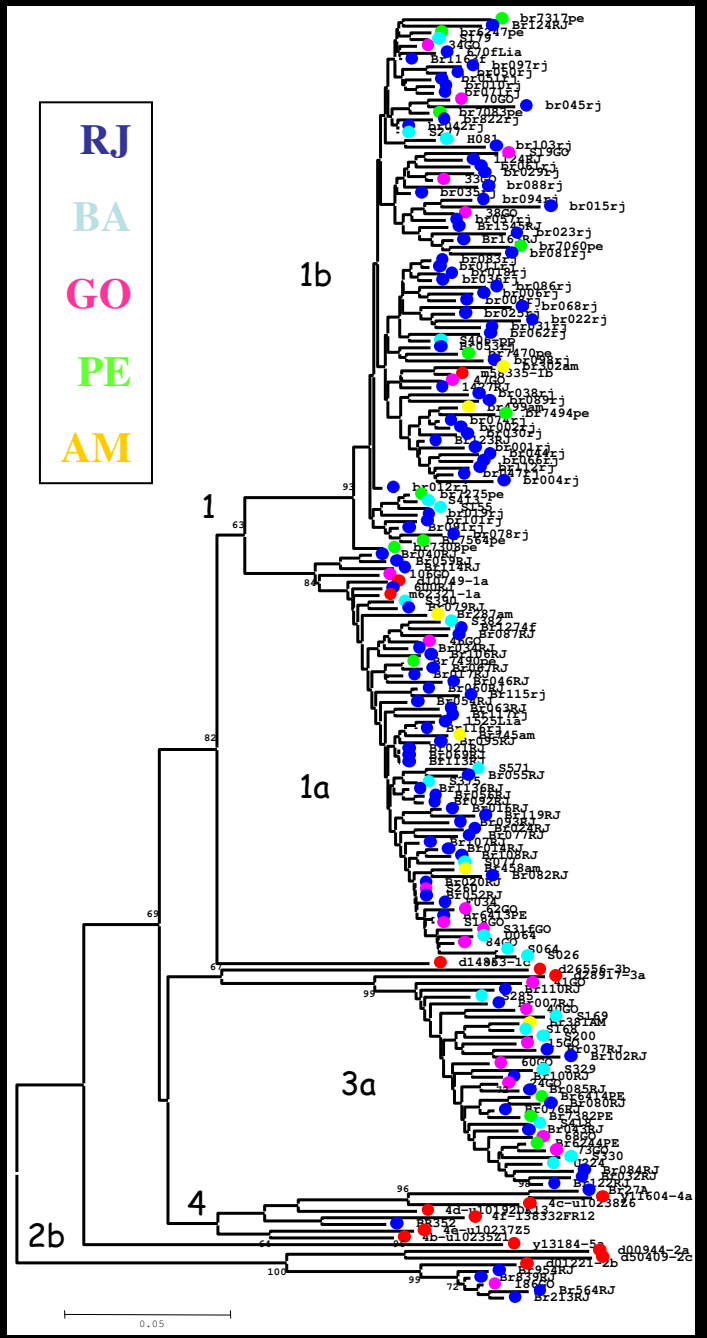


3	66	31.6 %
1b	60	28.7 %
1a	54	25.8 %
3a	22	10.5 %
5	3	1.4 %
other	4	1.9 %
total	209	100.0 %

Análise filogenética de 182 seqüências da região do core

Genótipos de HCV de diferentes regiões do Brasil.





Estudo da variabilidade genética do HCV das cepas do Brasil

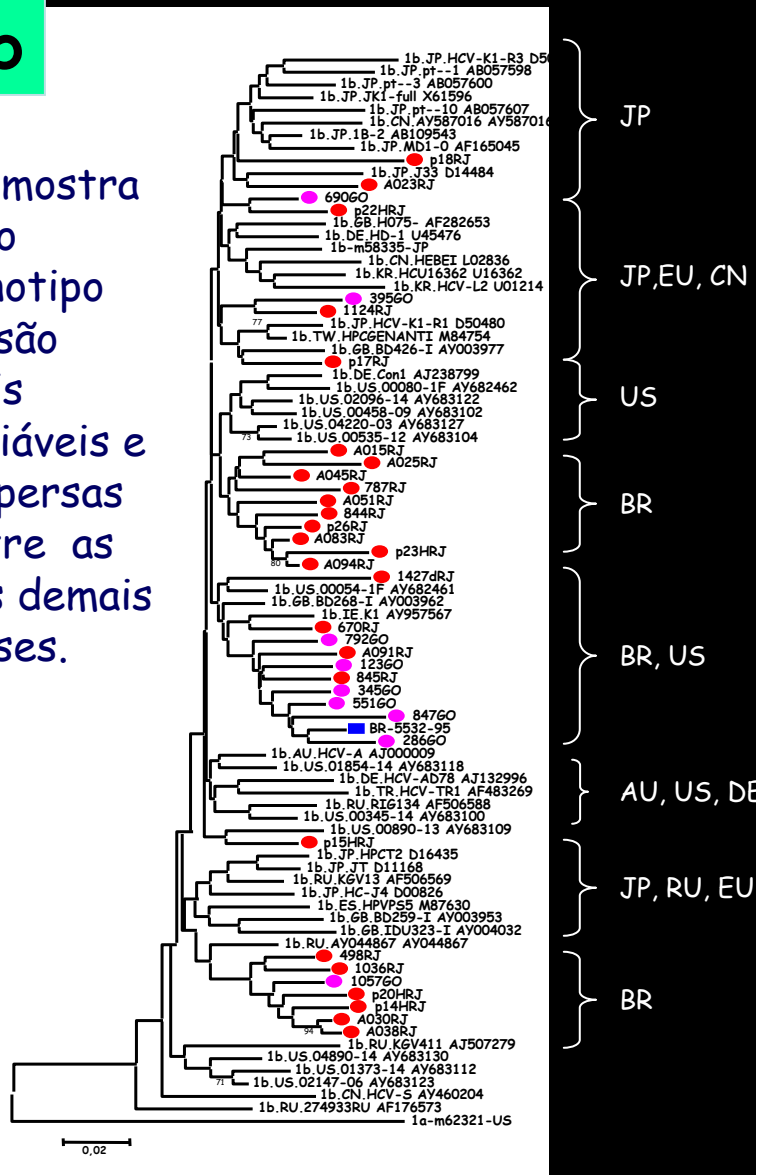
Análise filogenética da região NS5b do HCV de amostras do Brasil e de outros países

1a

✓Amostras do genótipo 1a formam cluster separado e distinto das dos demais países.

1b

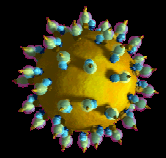
✓Amostras do genotipo 1b são mais variáveis e dispersas entre as dos demais países.



● Goiás ● Rio de Janeiro ■ São Paulo

Mecanismos de Transmissão

HBV

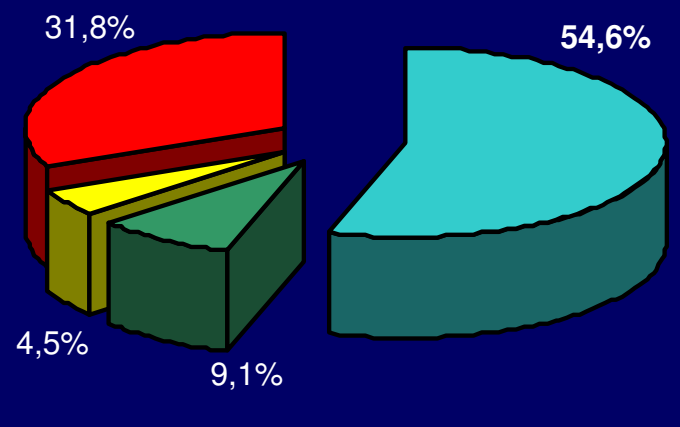


HCV

Estudos de transmissão viral
rastreamento de infecções parenterais e não-parenterais

Identificar fontes de disseminação

Aplicações de estratégias apropriadas
ao controle das infecções

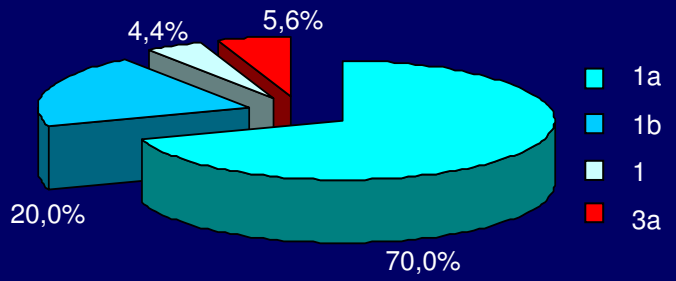


Genótipos do HCV em doadores de sangue em Goiânia

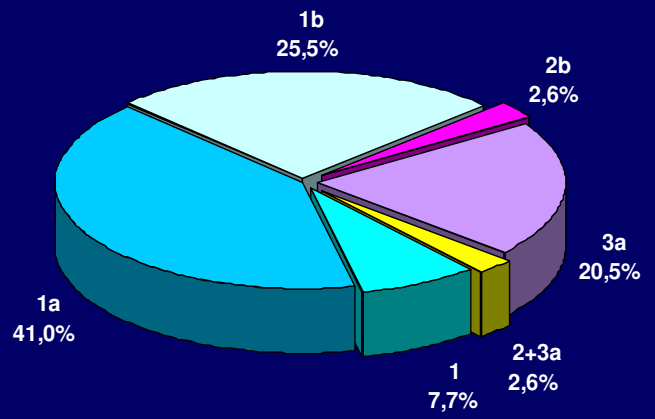
Distribuição de Genótipos do HCV

Depende do grupo estudado, fatores de risco, idade, etc

Dados de Goiânia: Dra Regina Maria Martins Bringel e equipe - UFG



Genótipos do HCV em pacientes em hemodiálise em Goiânia-GO



Genótipos do HCV em hemofílicos em Goiânia-GO

Evidência de transmissão de hepatite C em unidades de hemodiálise Estado de Goiás

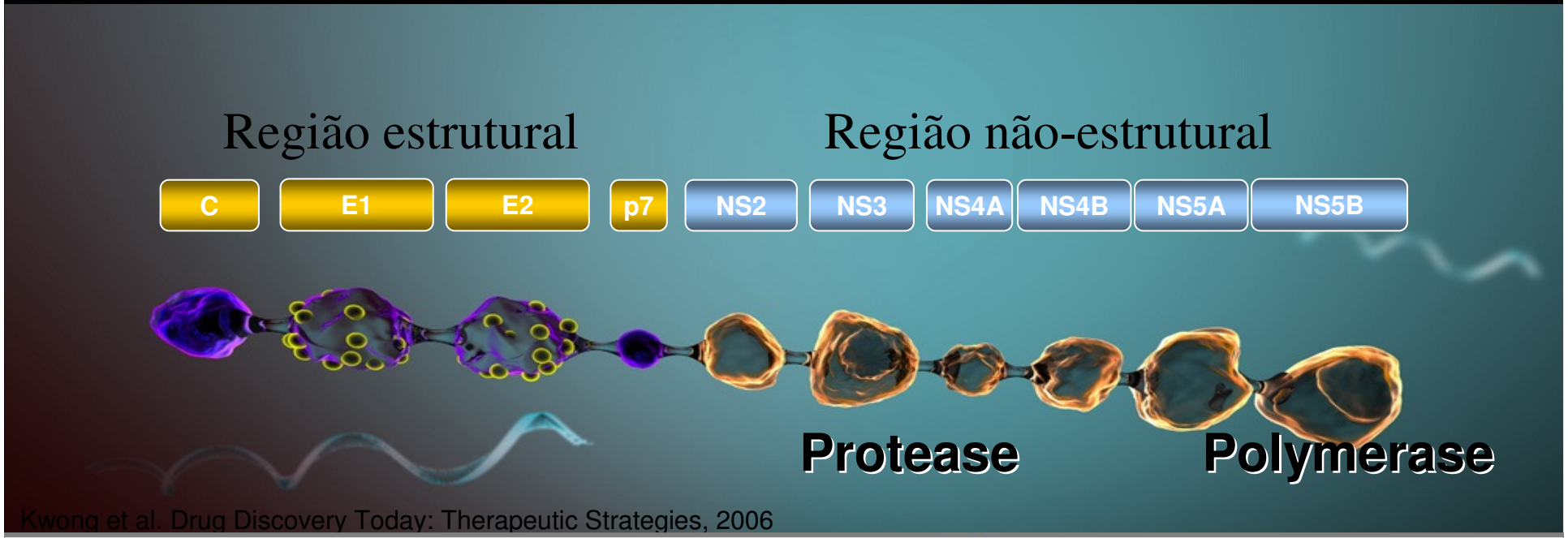
15 Unidades de hemodiálise do Estado de Goiás

1096 pacientes – 180 anti-HCV/HCV-RNA (16.4%)

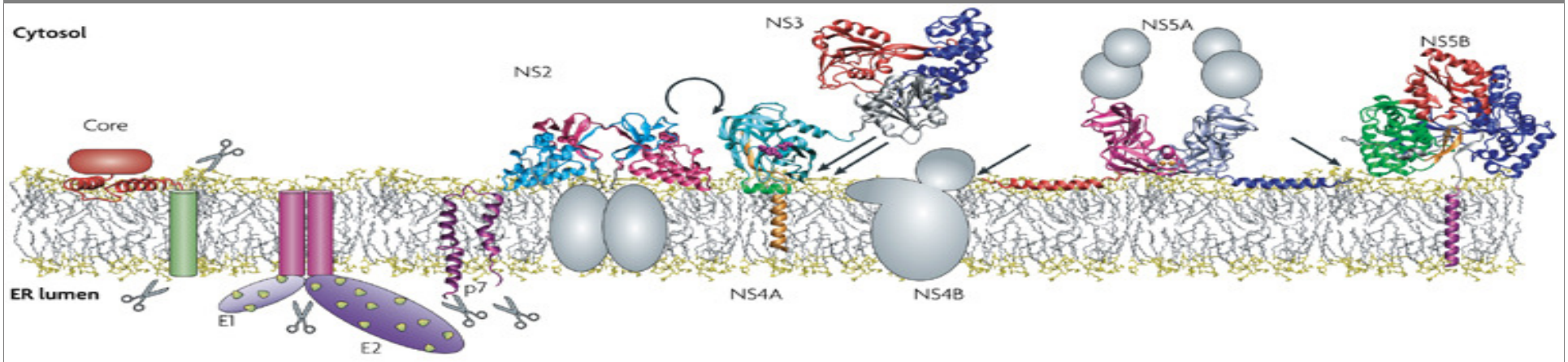
Seqüenciamento região NS5B do HCV e Análise filogenética: comprovação de transmissão nosocomial

Análise dados epidemiológicos: investigar possíveis rotas de transmissão do HCV nas unidades de Hemodiálise

Genoma do HCV

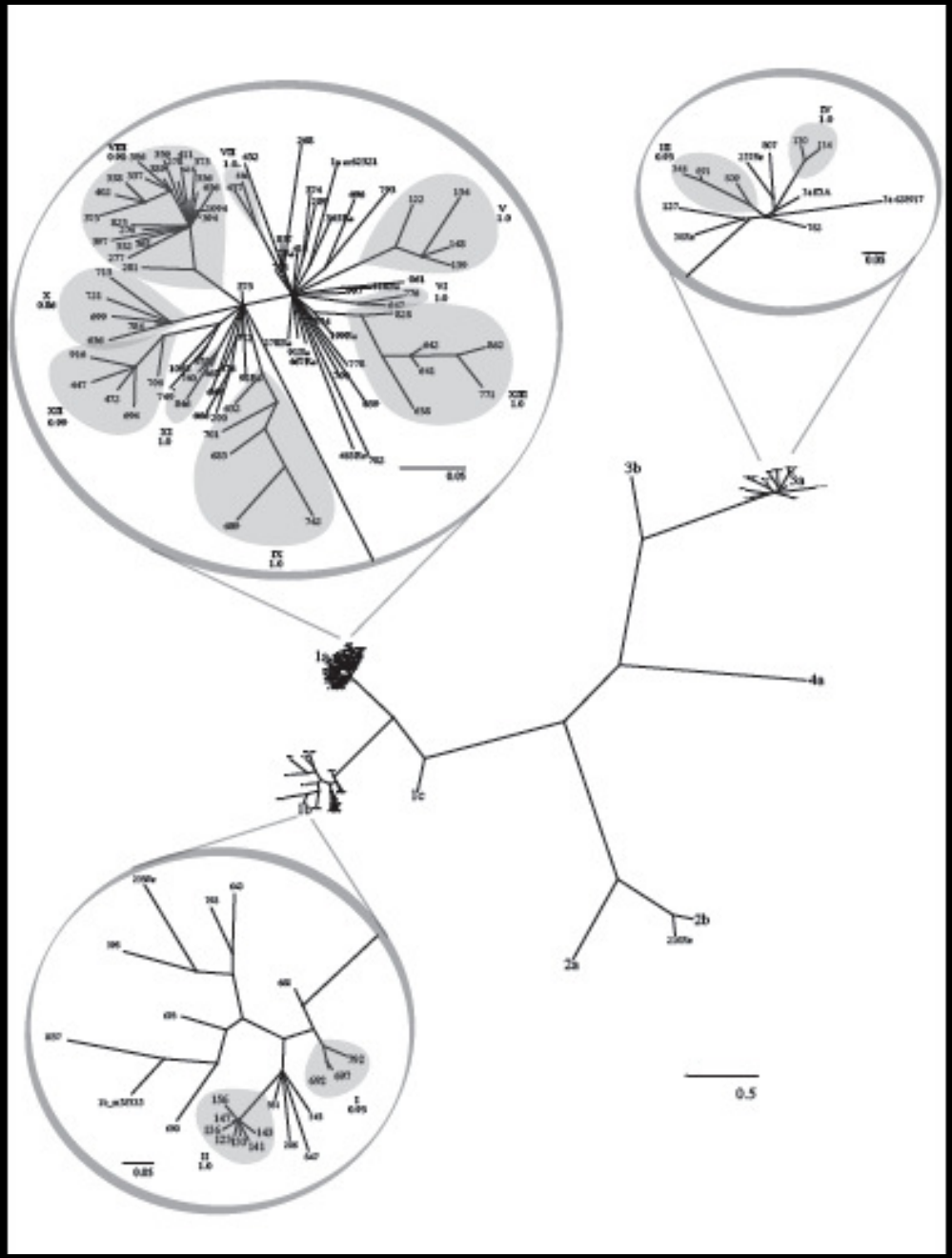


Kwong et al. Drug Discovery Today: Therapeutic Strategies, 2006



The figure was generated from the structure coordinates deposited in the PDB using Visual Molecular Dynamics and rendered with POV-Ray.

Nature Reviews | Microbiology



Transmissão nosocomial de HCV em pacientes em hemodiálise do Estado de Goiás- Brasil

15 unidades de diálise
106 patientes
Análise filogenética: 69 pacientes formaram 13 clusters de seqüências altamente relacionadas indicando transmissão de vírus entre os pacientes.

região NS5b (nt 8279-8619)

Journal of Medical Virolology,2007 sep, 79 (9): 1325-1333.

Investigação epidemiológica/molecular

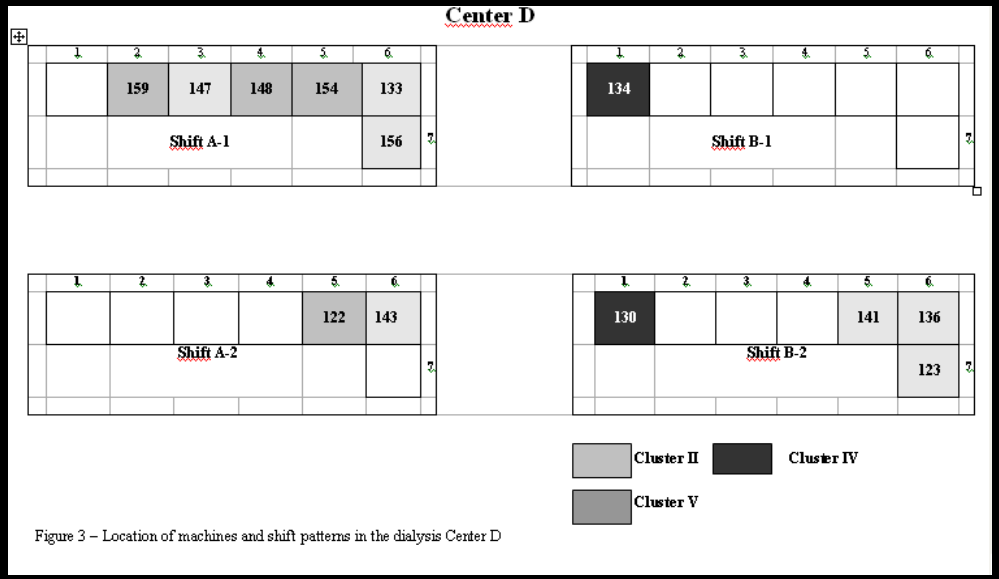
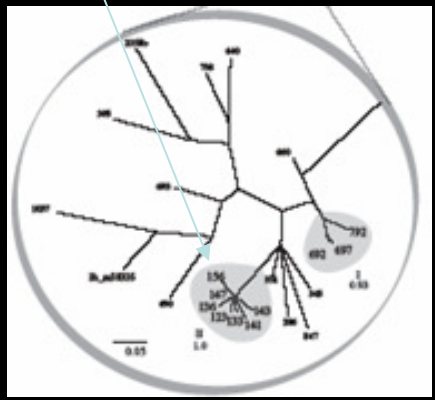


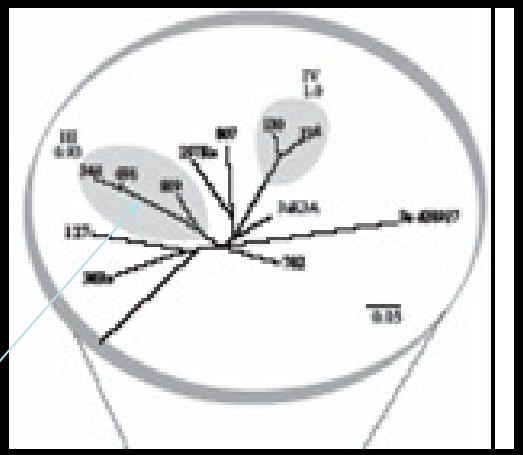
Figure 3 – Location of machines and shift patterns in the dialysis Center D

- Unidade D-
- 13 pacientes clusters II, IV e V-
- **Cluster II –genotipo 1b**



- único paciente (156) com fator de risco= transfusão de sangue, diálise longo período, análise filogenética – rápido alastramento da infecção para os demais 6 pacientes por quebra das medidas de prevenção

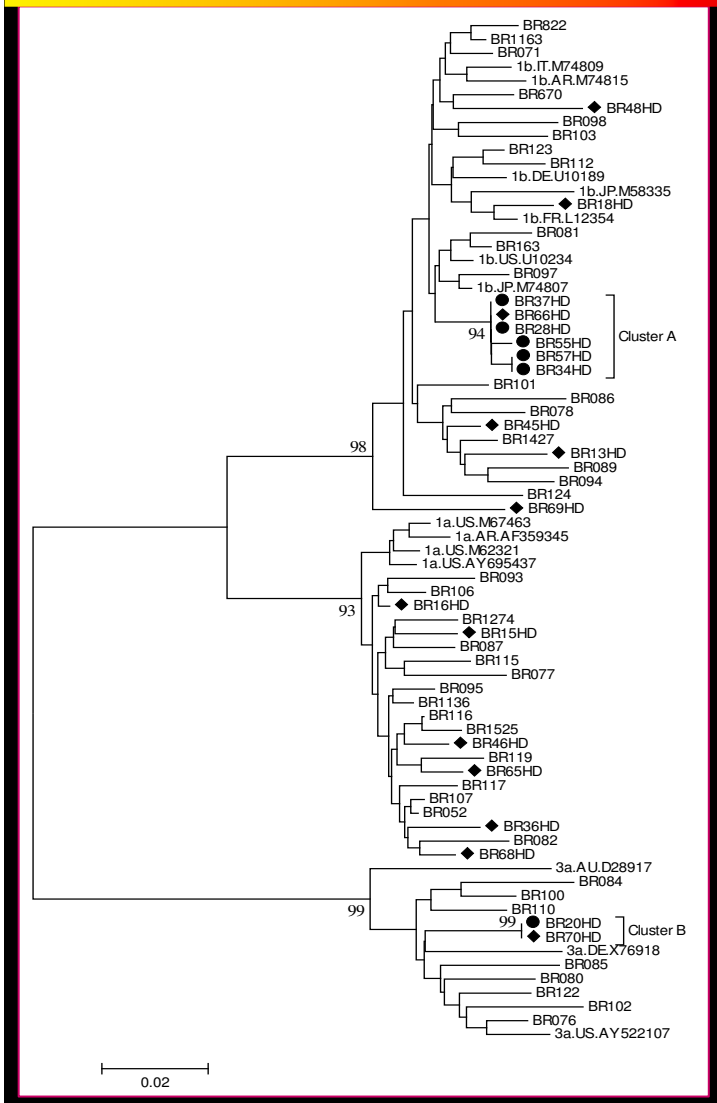
Investigação epidemiológica/molecular

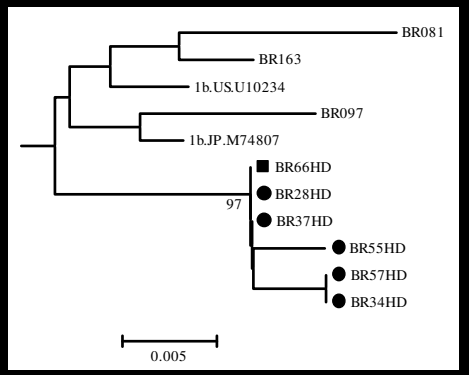


Cluster III- 3 pacientes: dois do centro J e um do centro M, mas este dialisou na clínica J em 1998 antes de ser transferido para clínica M

- Unidade J

Transmissão nosocomial de HCV em pacientes em hemodiálise evidenciada por análise filogenética da região do core



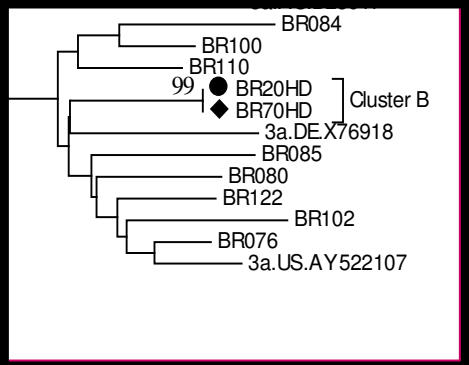


>97%

1b

Cluster de 6 seqüências relacionadas:

- 1 caso crônico
- 5 casos agudos



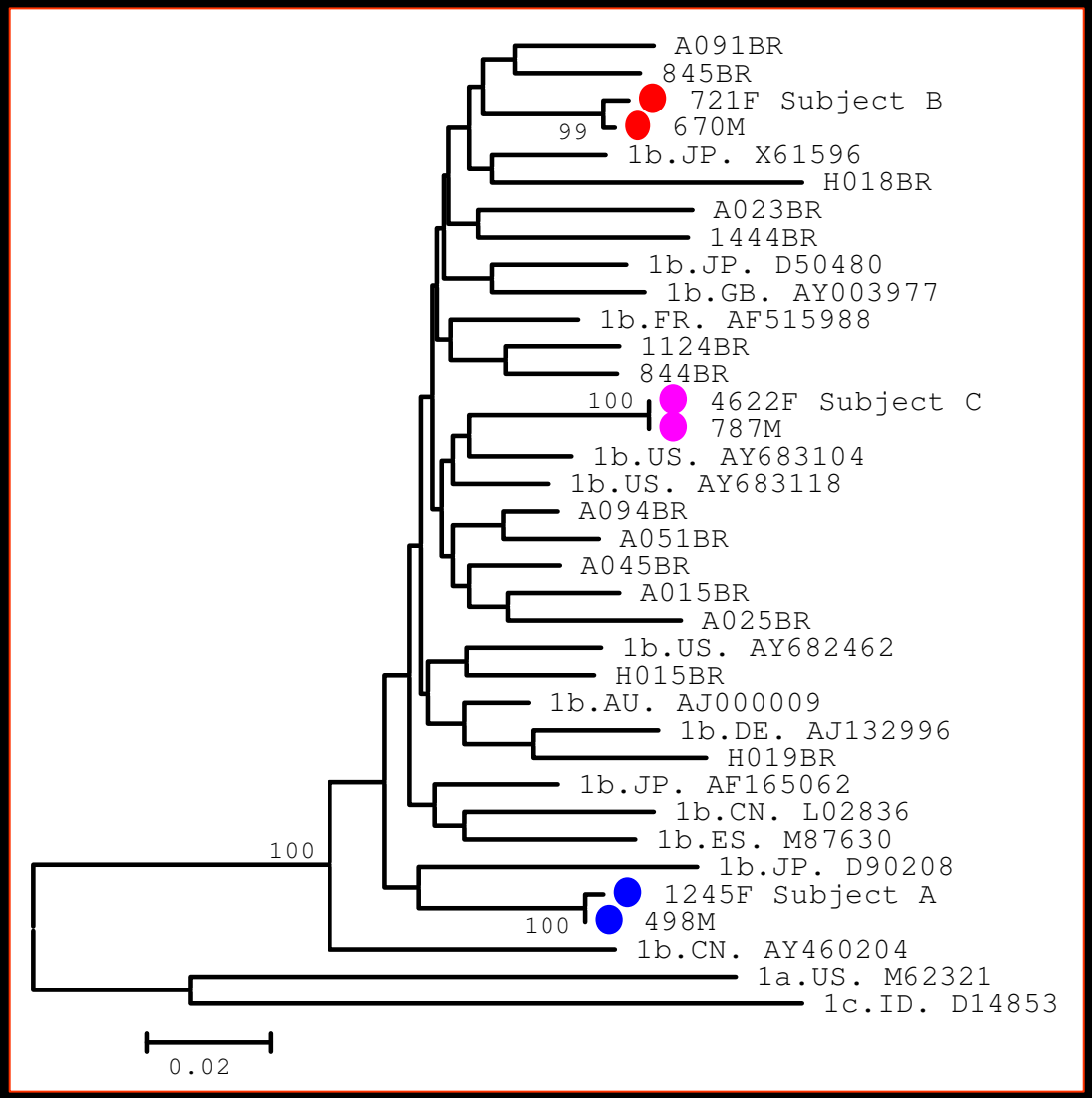
>99%

3a

Cluster de 2 seqüências relacionadas:

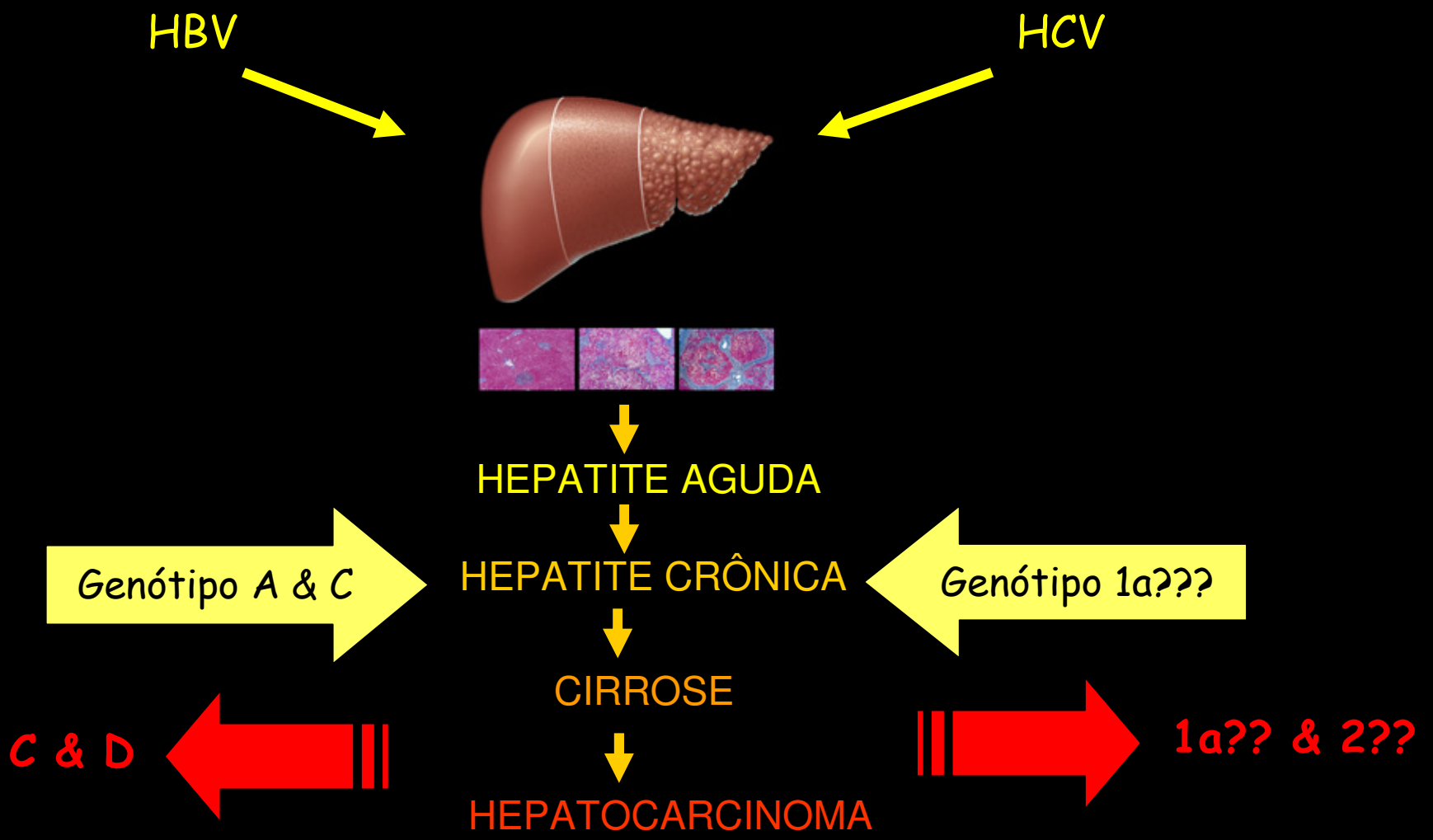
- 1 caso crônico
- 1 caso agudo

Estudos de investigação de transmissão



Evidência de transmissão sexual do HCV por análise filogenética

Curso Clínico da Doença



Preditores de Resposta Terapêutica

Hepatite B
Genótipo A & B > Genótipo C e D

Hepatite C
Genótipo 2 & 3 > 4 & 1

Resumo

Contribuição importante para :

1. compreender a distribuição geográfica e seus eventos migratórios.
2. investigar as vias de transmissão e identificando as suas fontes
3. avaliar o curso clínico da doença
4. estratégias terapêuticas

Equipe:

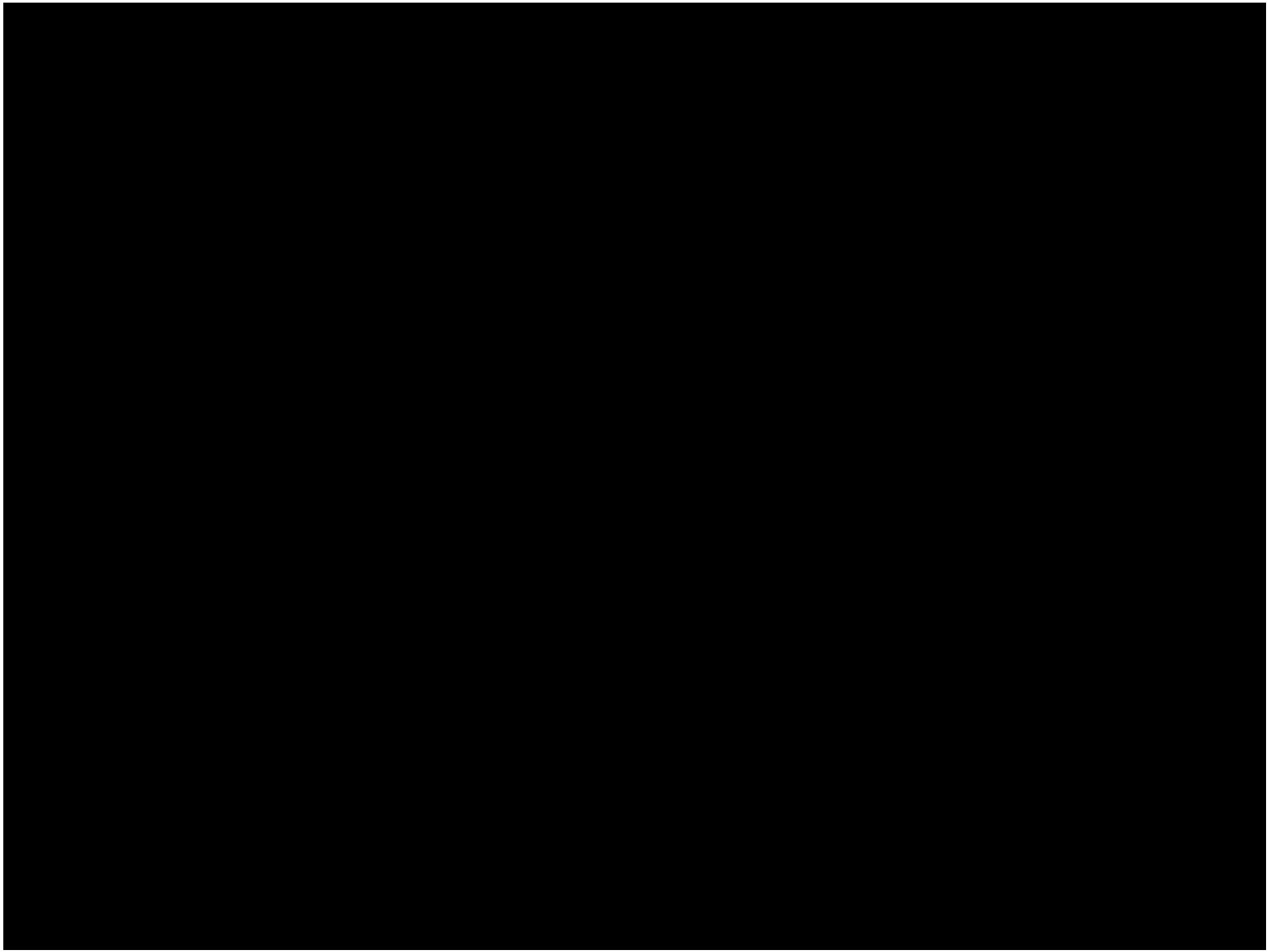
Elisabeth Lampe, PhD
Lia Laura Lewis-Ximenez, MD, PhD
Livia Mello Vilar, PhD
Marcia Leite Baptista, PhD
Clara F. T. Yoshida, PhD

Allan, Adilson, Karen, Márcia Paschoal - alunos de PG
Paulo, Cleber, Mara, Ilton, Sabrina, Juliana, Lucy, Lucia
+ equipe técnica, estagiários, estudantes graduação,

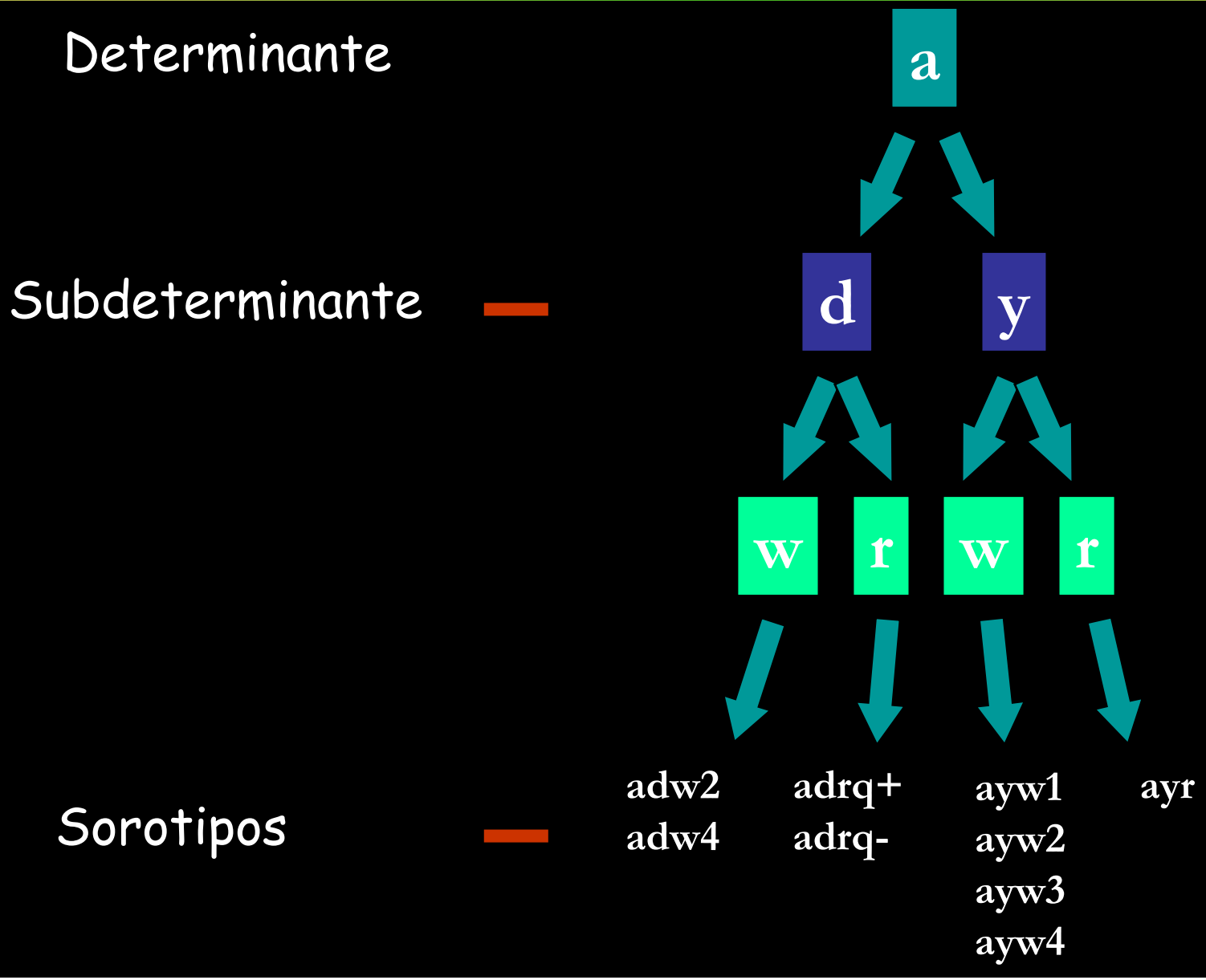
Colaboradores:

Laboratório de Desenvolvimento Tecnológico, IOC, FIOCRUZ
Laboratório de Virologia Molecular, IOC, FIOCRUZ
Hospitais de Referência em Hepatites, SMS, RJ
Universidade Federal de Goiás,GO
Massachusetts General Hospital/Harvard Medical School,Boston, EUA

OBRIGADA



Variabilidade do HBsAg



Genótipos do HBV

Grupo genômico	Sorotipo	Área de alta prevalência
A	*adw2* *ayw1*	Noroeste da Europa África Central
B	*adw2* *ayw1*	Indonésia, China Vietnã
C	*adw2* *adrq+* *adrq-* *ayr*	Ásia Oriental Coréia, China, Japão Polinésia Vietnã
D	*ayw2* *ayw3*	Área Mediterrânea India
E	*ayw4*	África Ocidental
F	*adw4*	Índios das Américas, Polinésia
G	*adw2*	México, America do Norte, Europa
H	*adw4*	Americas

Distribuição geográfica dos genotipos e sorotipos do HBV no mundo. Adaptado de Magnius & Norder, 1995.

Caracterização viral por seqüenciamento

Seqüenciamento nucleotídico seguido de Análise Filogenética

- ✓ é o método mais preciso para classificar o HCV.
- ✓ considerado padrão ouro contra qual todos os outros métodos são comparados.

Os dados das seqüências ⇒ base para desenvolvimento de testes de diagnóstico de HCV:

- ✓desenho de primers para detecção do RNA viral
- ✓seleção de enzimas de restrição para testes de genotipagem: RFLP
- ✓Desenho de sondas tipo específicas-teste hibridização reversa- *InnoLipa,*

Mutações

Na região pré-core

A troca do nucleotídeo da posição 1896 (G-A), resulta na ausência da síntese do HBeAg mais realcionada a genotipos B e C

Na região do promoter do core

Substituições no promoter do core ao nível do nucleotídeo 1762 (A -T) e 1764 (G-A), também interfere na transcrição do HBeAg

Na região do envelope

Escapam da proteção da vacina

Genótipos e Subtípos

Genótipo	Subgenótipos	Localização
A	A1	África, Brasil
	A2	Europa, EUA
	A3	Gabão, Camarões
B	B1	Japão
	B2	Ásia (– Japão)
	B3	Indonésia, Filipinas
	B4	Vietnã
C	C1	Sudeste Asiático
	C2	Ásia Oriental (Coréia, China e Japão)
	C3	Micronésia
	C4	Austrália
D	D1	Mongólia, Bielorrúsia, Europa
	D2	Índia
	D3	África do Sul
	D4	Austrália
F	F1	América Central
	F2	América do Sul

Tabela reproduzida com autorização do Francisco CA Mello, do Lababoratório de Virologia Molecular/IOC/FIOCRUZ/RJ, 2008)