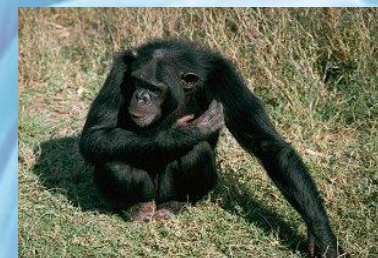
The background of the slide is a blurred laboratory setting. On the left, a hand in a blue nitrile glove holds a pipette. On the right, another hand in a blue glove holds a small, clear plastic vial with its cap open. In the center, a large white circle with a blue border contains the title and author information. A small blue dot is located on the upper right edge of the circle's border.

Программа Abbott по наблюдению за ВИЧ- и ВГВ- инфекцией

Дмитриев Петр

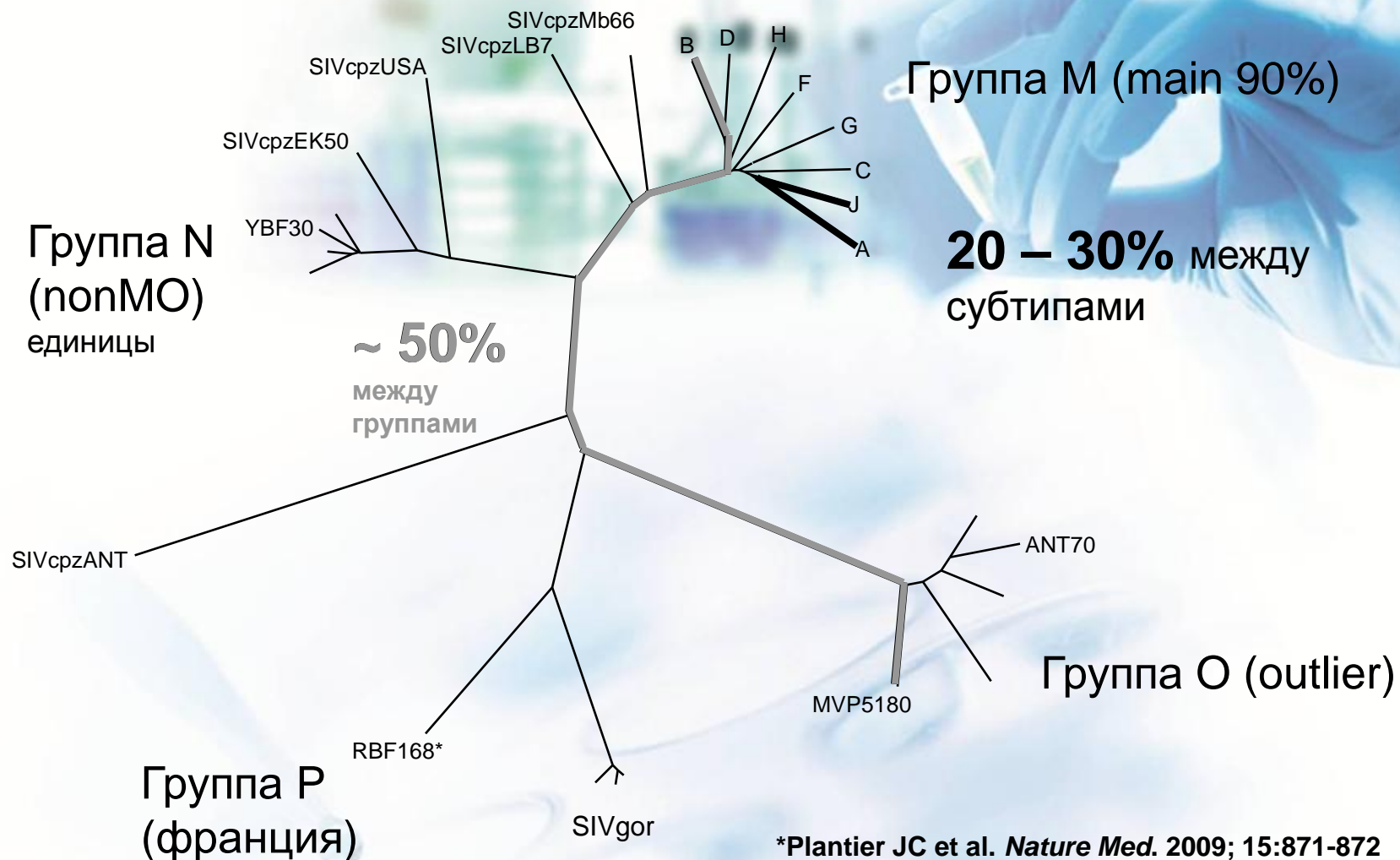
Источник генетического разнообразия ВИЧ-1

- Межвидовая передача (независимая)
 - ВИЧ-1: SIVcpz (шимпанзе; *P.t. troglodytes*)
SIVgor (горилла; *G.g. gorilla*)
 - ВИЧ-2: SIVsm (дымчатый мангабей)
- Фермент обратной транскрипции склонен к ошибкам
 - Отсутствие корректирующей функции
- Рекомбинация
 - Между субтипами, между группами

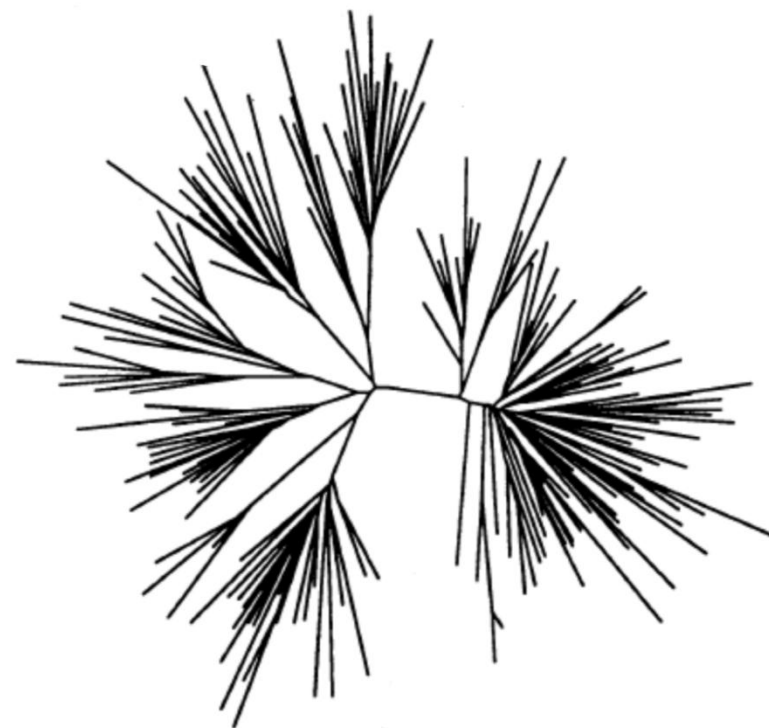
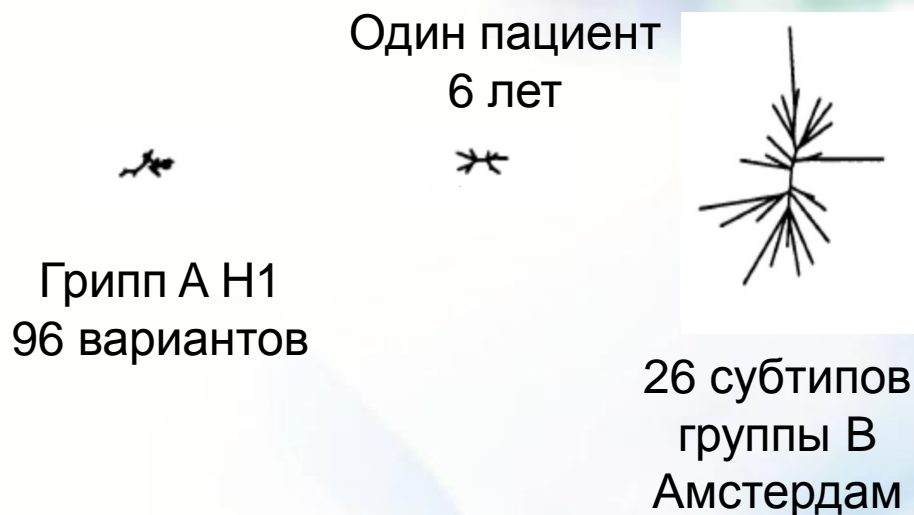


Филогенетическая классификация ВИЧ-1

env gp41 IDR; 869 nt



Выдающаяся генотипическая изменчивость ВИЧ: сравнение с вирусом гриппа



193 варианта ВИЧ-1 Группа М
Демократическая республика Конго



Рекомбинантные формы ВИЧ-1

- Между субтипами и меж-групповые
 - Уникальные рекомбинантные формы (URFs)
 - Циркулирующие рекомбинантные формы (CRFs)

CRF01_AE

CRF12_BF

CRF02_AG

CRF13_cpx (A, CRF_01, G, J, U)

CRF03_AB

CRF14_BG

CRF04_cpx (A, G, H, K, U)

CRF15_01B

CRF05_DF

CRF16_A2D

CRF06_cpx (A, G, J, K)

CRF17_BF

CRF07_B'C

CRF18_cpx (A1, F, G, H, K, U)

CRF08_B'C

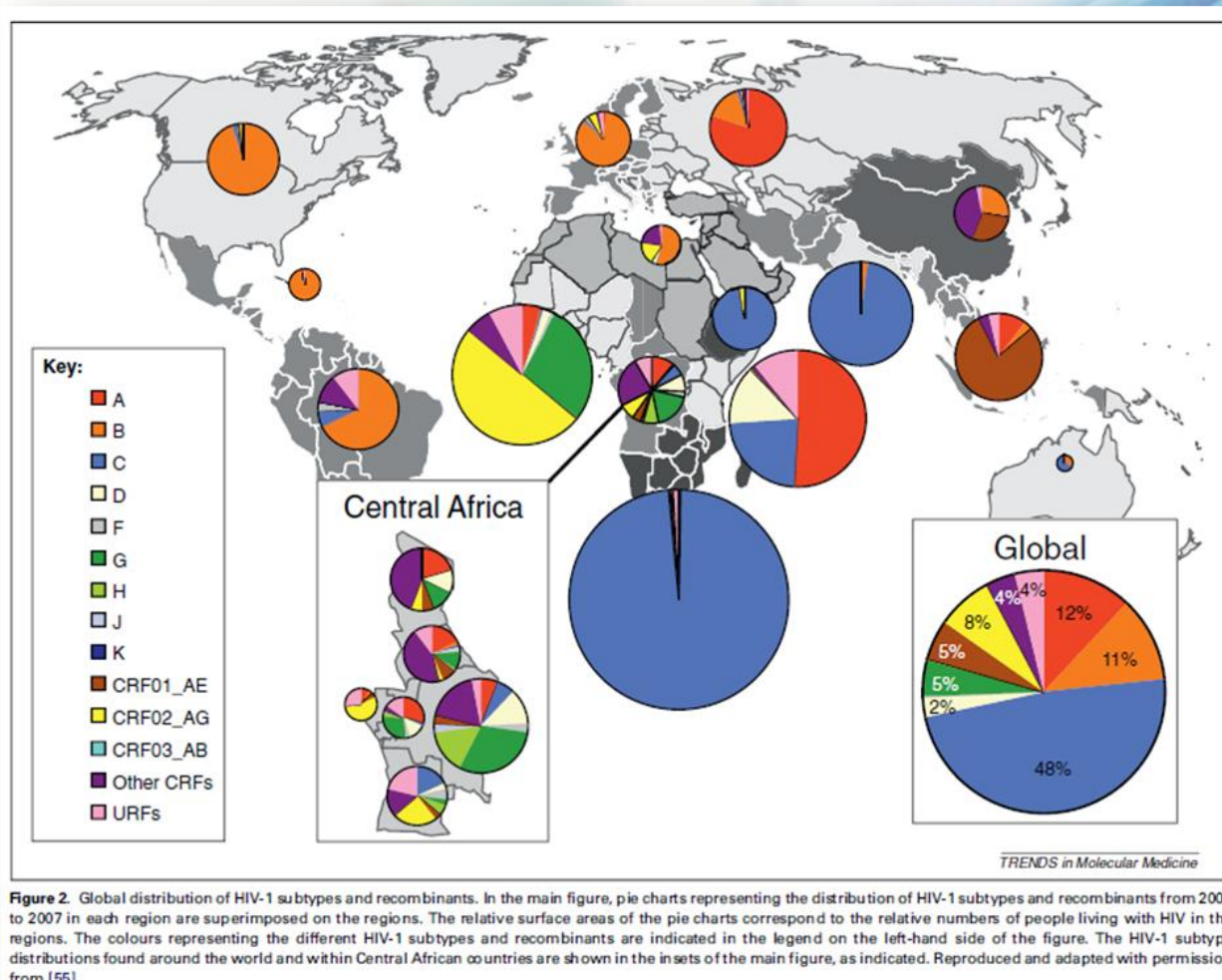
CRF09_cpx

CRF10_CD

CRF11_cpx (A, CRF_01, G, J)

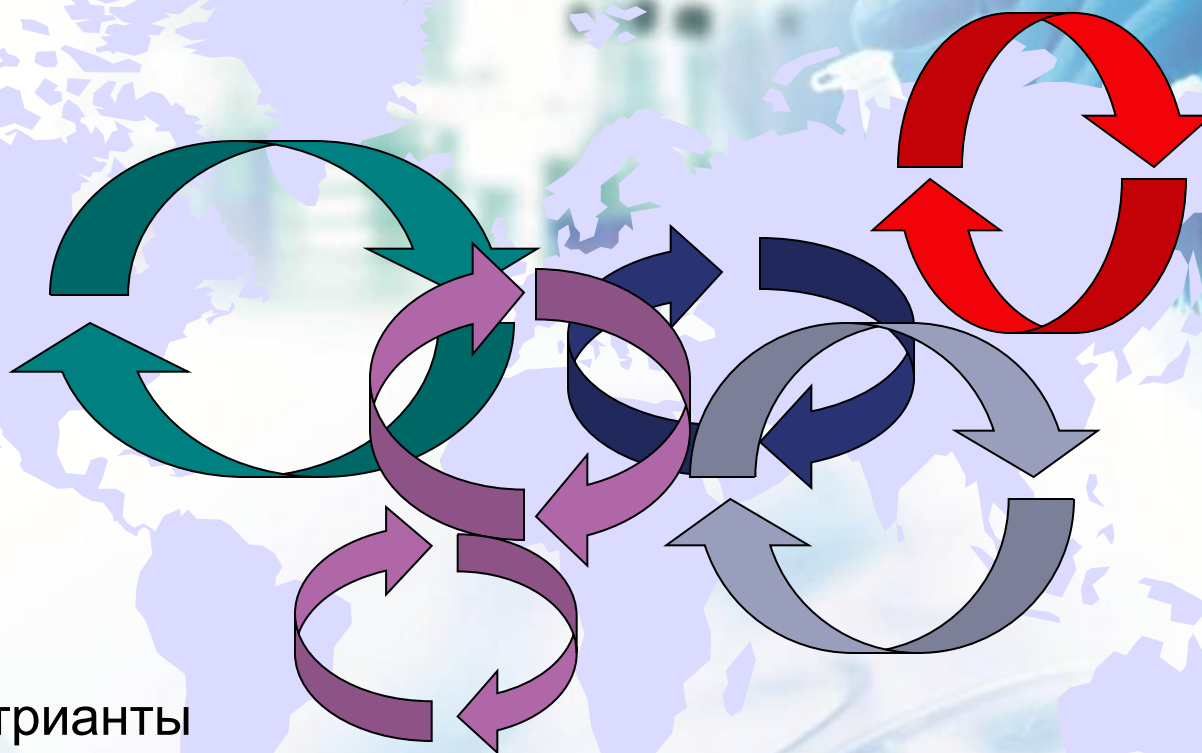


Мировое распределение субтипов ВИЧ-1



Глобальный размах разнообразия ВИЧ

- Туризм
- Эмиграция
- Рабочие-экспатрианты
- Секс-работники



Постоянная миграция вариантов ВИЧ



Влияние вариабельности ВИЧ

- Генетическое разнообразие ВИЧ-1 потенциально влияет на:
 - Скрининг крови
 - Диагностику
 - Мониторинг терапии
 - Определение вирусной нагрузки
 - Определение резистентности
 - Устойчивость к антиретровирусным агентам
 - Разработку вакцины



Задача для решения: Глобальная программа Abbott по наблюдению за ВИЧ-инфекцией

- Поиск новых вариантов ВИЧ
- Разработка хорошо охарактеризованной панели образцов, представляющей все группы/субтипы/рекомбинантные формы ВИЧ
- Описание уникальных образцов с дискордантными результатами тестирования и клинической картиной
- Оценка качества молекулярных и серологических тест-систем
- Создание базы данных нуклеотидных последовательностей
- Создание инструментов по улучшению тест-систем (e.g. панели образцов, создание искусственных транскриптов, новые технологии зондирования)



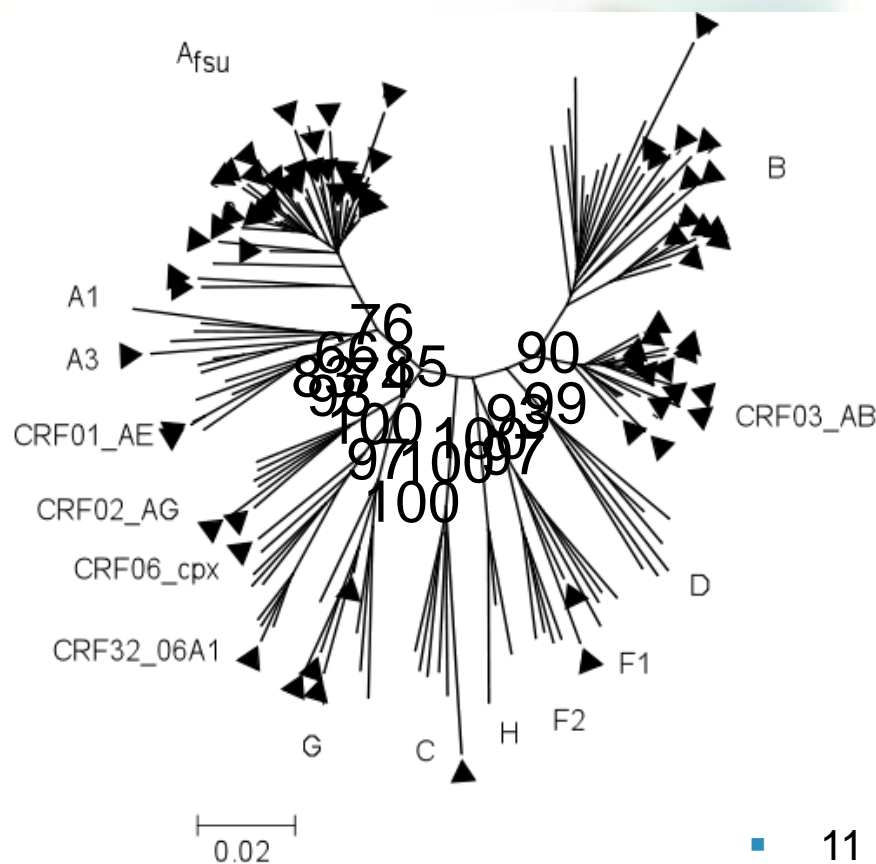
Программа наблюдения за вирусами Эбботт: Исследовательские центры



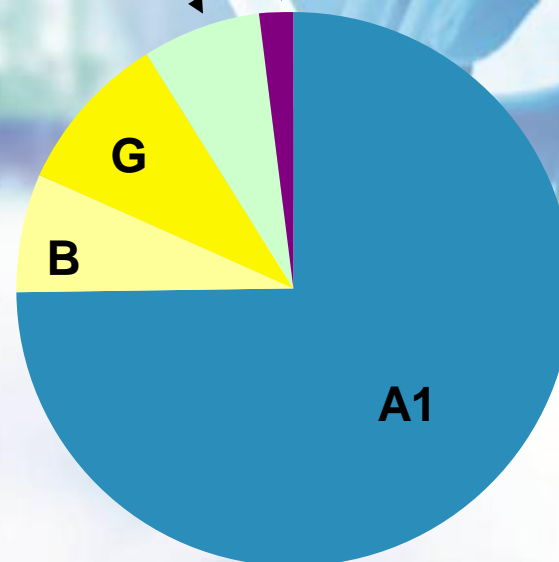
Субтипы ВИЧ-1 в России: ViroSeq Проект с участием Российских Центров



Субтипы ВИЧ-1 в России: Все образцы ($n = 556$)



CRF03_AB All Other



- 11 циркулирующих субтипов
- Большинство: HIV-1 A субтип
- Специфический для России A1 субтип (A fsu)



Поиск редких и новых штаммов

- Основное внимание к Камеруну
 - Большое разнообразие штаммов (колыбель)
 - Группы N,O и P эндемичны
 - Естественная среда обитания человекообразных обезьян
- Население в группах повышенного риска
 - Пациенты больниц и клиник
 - Сельские и городские районы



Поиск редких и новых штаммов

Центр Abbott - одна из двух лабораторий в мире, где идентифицируют и характеризуют вирусы редких групп N и Р

Abbott обладает одной из самых больших коллекций образцов группы О

- Определены > 150 вариантов инфекции группы О
- Определены 9 вариантов инфекции группы N
 - всего в мире описано около 15
- Определен 1 вариант инфекции группы Р
 - всего в мире известно только 2



Новая группа ВИЧ-1 происходящая от гориллы

- Женщина 62 лет из Камеруна, проживающая во Франции с 2004 года
- Диагностирована как ВИЧ-положительная на момент прибытия в Париж (WB подтвердил)
- Монитор v1.5 не обнаружил вирусную нагрузку в плазме
- RealTime HIV-1 (Abbott) определил 4.4 – 5.3 Log копий/ML
- Подозрение на ВИЧ-1 группу О штамм, но вирус не амплифицировался с группой М и О-специфическими праймерами для резистентного генотипирования
- Успешно амплифицировали и секвенировали геном – идентификация группы Р!



Сближение двух миров: найдена новая группа ВИЧ-1



НИАРМЕДИК

Slide courtesy of Prof. F. Simon

ARCHITECT HIV Combo: Определение ВИЧ-1 группы N

Specimen	ARCHITECT® Combo (Tested at 1:25 dilution) S/CO
1015-04	72.19
1131-03	11.19
DJO-2002-0131	327.37
DJO-2002-0135	432.80
SJG-2002-ddd	150.21
TIM-2002-B-0217	109.96
U14296	382.59
U14945	293.61

Эффективное определение восьми ВИЧ-1 образцов группы N на тест-системе ARCHITECT HIV Combo



“Вирусологический беспорядок... Наиболее быстрая из описанных эволюция генома”

Simon Wain-Hobson (проф. Институт Пастера. Париж. Франция)

- Увеличение разнообразия и постоянно меняющееся распространение ВИЧ-1 представляет сложность для диагностики и мониторинга
- Продолжение наблюдения за разнообразием и изменчивостью ВИЧ необходимо
- Тесты, способные выявлять ВИЧ вне зависимости от группы и субтипа, очень важны для обеспечения надежности детекции и оптимального ведения пациента
- Программа Abbott по наблюдению за ВИЧ: Основа для создания “лучших в классе” тест-систем



Генетическое разнообразие ВГВ

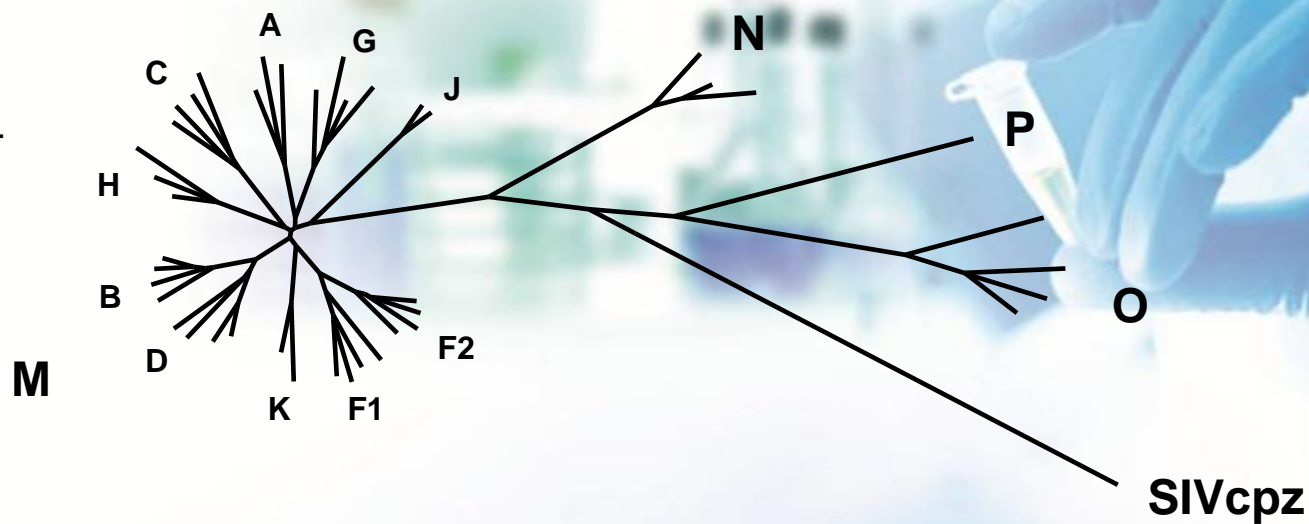
- Фермент обратной транскрипции склонен к ошибкам
 - Высокий уровень репликации
 - Высокий уровень мутации
 - Селективное давление *In vivo*
 - Уклонение от иммунитета
 - Уклонение от вакцины
 - Резистентность к терапии – особенно в случаях ко-инфекции ВИЧ/ВГВ
- Влияние генетического разнообразия ВГВ:
 - Диагностика и скрининг
 - Мониторинг терапии
 - Устойчивость к противовирусным агентам
 - Уклонение от вакцины



Генетическое разнообразие ВГВ

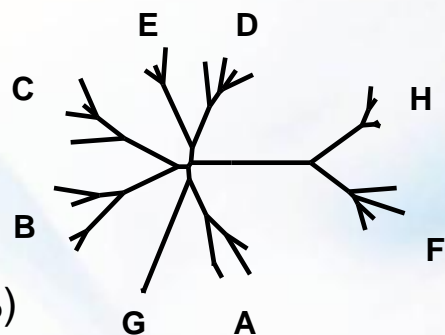
ВИЧ-1

protease-RT
1302 n



ВГВ

preS-RT 1101n
(8 генотипов – 8%)



НИАРМЕДИК

Распространение ВГВ

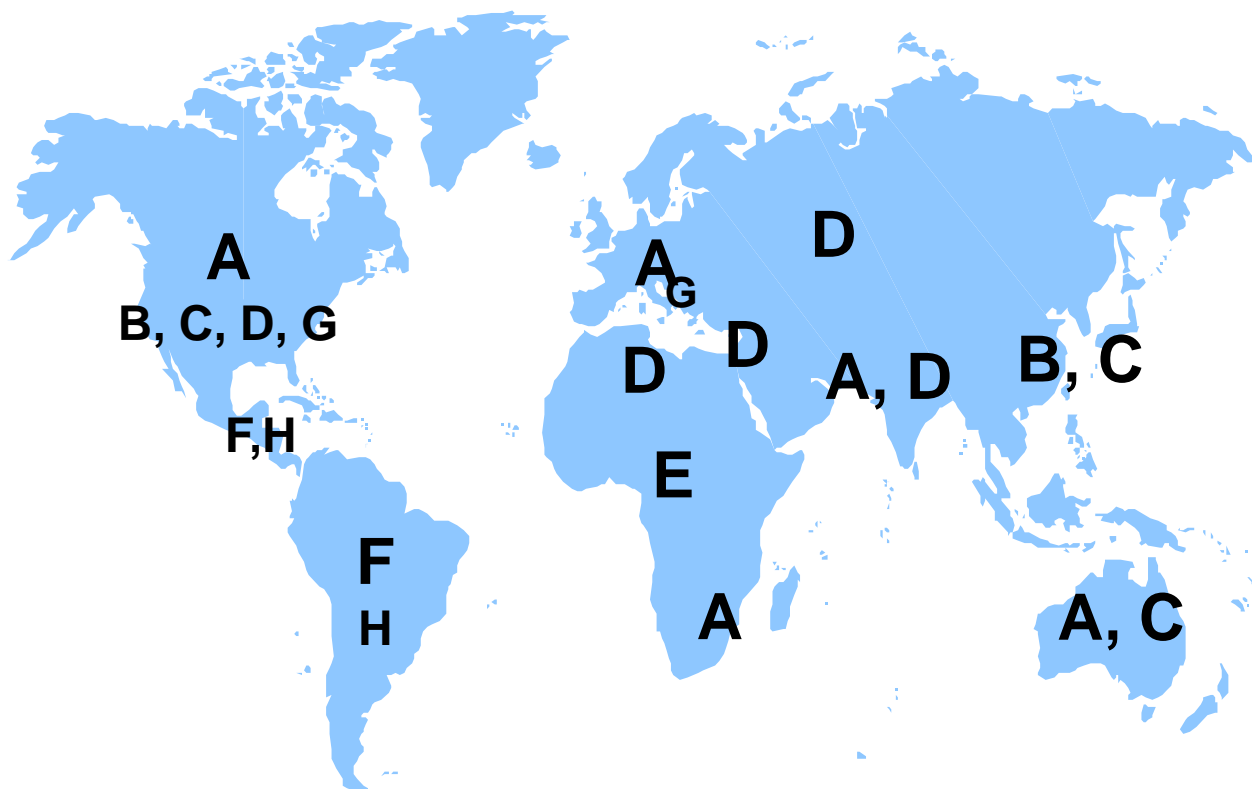


НИАРМЕДИК

Mast EE, et al. MMWR Recomm Rep. 2006;55:1-33.

Custer B, et al. J Clin Gastroenterol. 2004;38(10 suppl):S158-S168.

Географическое распределение генотипов ВГВ



Мутанты HBsAg

- Мутанты HBsAg распространены по всему миру
 - Мутации внутри и вокруг “а” детерминанты HBsAg появляются в основном у хронических носителей
- Мутации HBsAg могут привести к изменениям при распознавании антигена антителом и, таким образом, к сложностям при диагностике инфекции
 - Уменьшение аналитической чувствительности тестов
- HBsAg – ключевой маркер при острой и хронической ВГВ-инфекции



Программа наблюдения за ВГВ-инфекцией

Основные цели:

- Разработка хорошо охарактеризованной панели, содержащей:
 - Все генотипы/субтипы ВГВ
 - Нативные мутанты ВГВ по поверхностному антигену
- Создание панели HBsAg для оценки качества тестов

Стратегия:

- Скрининг HBsAg-положительных образцов на наличие мутаций
 - Основанный на серологическом профиле
 - Основанный на секвенировании вирусной ДНК



Использование панели ВИЧ для исследования ВГВ

- Получение образцов HBsAg достаточного объема - проблема
- Образцы больших объемов от доноров из Камеруна, Тайланда, Бразилии и Аргентины
 - Скрининг тест-системой ARCHITECT HBsAg (43 года – с 1972г)
 - Секвенирование всех HBsAg+ образцов

Country	# Tested	HBsAg Positive	# PCR Positive	Genotypes Present
Cameroon	1381	152	123	A, E, A/E recombinant
Thailand	321	24	24	C, B
Brazil	156	6	6	A, F
Argentina	4	0	na	na



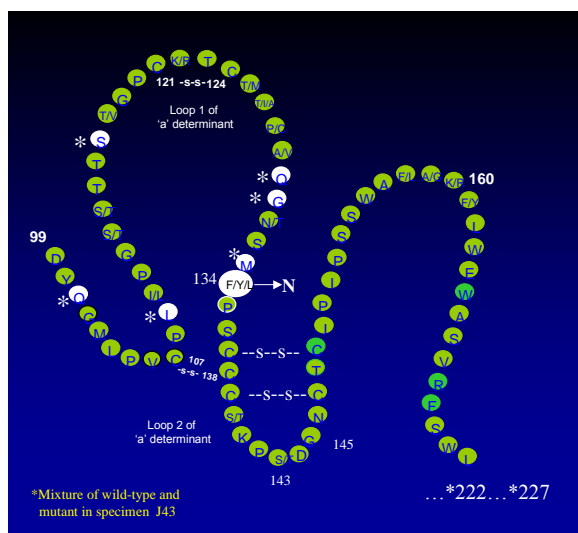
Мутанты HBsAg из Южного Камеруна

Specimen ID	HBV Genotype	Phenotype	HBsAg Mutant
SUK 68	A	WT	T126N
SUK 301	E	na	Q101R, K160N, S167L
SUS 39	A	WT	T118A
SUS 164	E	na	Q101H, G130R, F134S
SUS 202	A	WT	T116I, C121S, T123P, M133IM (50%), F134FL (50%), P135H
SUE 296 D	E	WT	F134FL (L 80%), E164EG (G 80%)
SUE 316 D	E	WT	Q101R, S154PS (P 50%), K160N, E164G
SUE 361 D	E	na	Q101H, T125M, E164AE (A 75%)
SUE 443 D	E	E1 mutant	T126S
SUE 475 D	A	na	M103I, S113T, S167L
SUE 550 D	E	WT	S140L
SUE 612 D	E	na	E164G
SUE 714 D	E	E1 mutant	T123A
SUE 746 D	A	WT	Y100C, Q129QR (R 85%)
SUE 753 D	A	WT	Y100C, M103I, N131S, E164G, R169HR (H 50%)
SUE 762 D	E	na	Y100S, T125MT (M 50%), T131P, S143L, S154PS (P 50%)
SUE 693 A	A	WT	Y100C, Q101PQ (P 50%), P120PT (T 50%)
SUE 379 V	E	possible mutant	Q101H, S174N
SUE 417 V	E	WT	F134FV (V 50%), G145A, S167LS (L 50%)

Sensitivity of five new Hepatitis B surface antigen assays

Thoai Duong Ly, Mélanie Dautigny - Laboratoire Biomnis Ivry-sur-Seine, France

Poster 22nd Regional Congress of the ISBT, Asia Taipei, November 19 - 23, 2011.



*S/CO was 0.981 (retest range)

ID GSA Update 03.15.12
M Kuhns

Table 3: Detection of Native HBsAg Mutants

Company	Abbott	Siemens	Roche	Roche	DiaSorin
Assay name	ARCHITECT HBsAg	Advia Centaur	HBsAg II	HBsAg II	LIAISON® XL
	Qualitative II	HBsAg II	Qualitative	Quant	HBsAg Quant
Native mutant samples at 2 dilutions [number positive/number tested]					
C76CY, Y100C, T118TM, TS140I, S154SL	2/2	2/2	2/2	2/2	2/2
L77LQ, G130RG	2/2	2/2	2/2	1/2	2/2
F85C, T140L	2/2	2/2	2/2	1/2	2/2
V96G, D144E, G145GR, W172W, W182W	2/2	2/2	2/2	1/2	2/2
L98LV, G145GR	2/2	2/2	2/2	1/2	2/2
L98A, T115TN, G119E, FY134I, T140TI, TS143L, C147Y, C149Y	2/2	2/2	2/2	2/2	2/2
Y100C, G102S, C121R	2/2	2/2	2/2	2/2	2/2
Y100C, F134FS, F170FL	2/2	2/2	2/2	2/2	2/2
Y100YC, Q129L, G145GRA	2/2	2/2	2/2	2/2	2/2
Y100C, E164G	2/2	2/2	2/2	2/2	2/2
M103I, A128AV, F134FL, P135PR, E164EG	2/2	2/2	2/2	1/2	2/2
G112GR, F134FS	2/2	2/2	2/2	1/2	2/2
S113A, T115N, P120T	2/2	2/2	2/2	1/2	2/2
T115N, S154P	2/2	2/2	2/2	1/2	2/2
T118TM, T1126IL	2/2	2/2	2/2	2/2	2/2
T123S	2/2	2/2	2/2	2/2	2/2
T123S	2/2	2/2	2/2	2/2	2/2
T123A	2/2	2/2	2/2	2/2	2/2
T126A	2/2	2/2	2/2	1/2	2/2
T126ST	2/2	2/2	2/2	1/2	2/2
Q129H	2/2	2/2	2/2	1/2	2/2
G130EG, E164EG	2/2	2/2	2/2	1/2	2/2
G130R, FY134N	2/2	2/2	2/2	1/2	2/2
T131N	2/2	2/2	2/2	2/2	2/2
F134I	2/2	2/2	2/2	2/2	2/2
ST140L	2/2	2/2	1/2	1/2	2/2
ST140L	2/2	2/2	2/2	1/2	2/2
T140L	2/2	2/2	2/2	1/2	1/2
S143L	2/2	2/2	2/2	2/2	2/2
S143L	2/2	2/2	2/2	2/2	2/2
S143L	2/2	2/2	2/2	2/2	2/2
S143L	2/2	2/2	2/2	2/2	2/2
FY161H	2/2	2/2	2/2	1/2	2/2
E164EA	2/2	2/2	2/2	1/2	2/2
Native mutant samples at one dilution					
T123AT	1/1	1/1	1/1	0/1	1/1
D144DN	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1
G145R	1/1	1/1	0/1*	0/1	1/1
Total number positive/number tested	71/71	71/71	69/71	51/71	70/71

Заключение

- Наблюдение за ВИЧ и ВГВ:
 - Стратегия выявления редких вариантов ВИЧ и мутантов HBsAg
 - Научная поддержка для развития продуктов инфекционного направления (серологические и молекулярные тесты)
- Генетическое разнообразие ВИЧ и ВГВ может влиять на качество диагностических тестов – необходимо обеспечить лаборатории тестами, способными надежно выявлять все инфекции ВИЧ/ВГВ, независимо от варианта и географического расположения.
- Наблюдение за ВИЧ и ВГВ – программа, позволяющая Эбботт быть научным и конкурентным лидером в направлении инфекционного тестирования.



Возможные перспективы

- **В мире.** Abbott планирует инициировать аналогичную работу по сбору статистических данных о распространенности и разнообразии HTLV первого и второго типов (в связи с острым недостатком такой информации во многих частях света). Активно используется тест Anti-HBc для доноров.
- **В СНГ.** Недавно зарегистрирована новая панель тестов на EBV.
- **В СНГ и мире.** Все больше учреждений используют тест-системы для определения антигена гепатита С (HCV Ag):
 - Скрининг пациентов из групп риска
 - Рефлекс-тестирование положительных по антителам образцов
 - Как дополнение к мониторингу терапии
 - Рождение от ВГС инфицированной матери



Спасибо за внимание!



«Ниармедик Плюс», ООО

улица Авиаконструктора Микояна 12, корпус А

Офисный центр «Линкор»

125252 Москва, Российская Федерация

Телефон: + 7 (495) 741 49 89

Факс: + 7 (499) 193 43 50

E-mail: info@nearmedic.ru

www.nearmedic.ru

www.kagocel.ru

www.collost.ru

www.collostmed.ru

www.nrmed.ru