

GENOTIPE VIRUS HEPATITIS G PADA PENDERITA THALASEMIA SEBAGAI KELOMPOK RISIKO TINGGI TERTULAR HEPATITIS G

Indeswati Diyatri¹⁴, Retno Handajani²⁴, Harlina Soetjipto³⁴

¹ Departemen Biologi Oral Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga

² Departemen Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga

³ Departemen Ilmu Faal Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga

⁴ Lembaga Penyakit Tropis, Universitas Airlangga

ABSTRAK

Virus Hepatitis G (VHG) termasuk virus RNA utas tunggal dari famili Flaviviridae, merupakan salah satu faktor etiologik infeksi virus hepatitis pasca transfusi. Diagnosis infeksi virus hepatitis G dapat dilakukan dengan teknik PCR menggunakan primer berdasar regio 5'-untranslated region (5'UTR) yang merupakan daerah yang cukup *conserved*. VHG terutama ditularkan secara parenteral. Talasemia merupakan suatu kelainan genetik, dan sampai sekarang belum dapat diterapi kausal selain dengan transfusi darah, oleh karena itu penderita Talasemia merupakan kelompok risiko tinggi untuk tertular VHG. Pada penelitian ini dapat dideteksi RNA VHG pada 5 dari 10 (50%) penderita Talasemia. Analisis filogenetik berdasar regio 5'UTR dalam penelitian ini menunjukkan bahwa isolat VHG penderita Talasemia dapat dikategorikan dalam 2 kelompok, yaitu genotipe 4 sebanyak 60%, genotipe 5 sebanyak 40%..

Kata kunci : Genotipe, VHG, Talasemia

PENDAHULUAN

Virus Hepatitis G (VHG) merupakan virus baru penyebab hepatitis (Leary *et al*, 1996; Linnen *et al*, 1996). VHG terutama ditularkan secara parenteral, sehingga penerima transfusi darah, penderita yang menjalani hemodialisis, intravenous drug user, dan petugas kesehatan yang banyak berhubungan dengan darah mempunyai risiko lebih tinggi terinfeksi VHG. (Feucht *et al*, 1997; Linnen *et al*, 1996; Masuko *et al*, 1996 Nakatsuji *et al*, 1996; Nigro *et al*, 1992; Tsuda *et al*, 1996) Sampai saat ini telah dipublikasi secara luas secara luas 4 genotipe virus hepatitis G, dan baru-baru ini ditemukan genotipe 5 di Indonesia yang diusulkan sebagai genotipe baru virus hepatitis G. (Handajani *et al*, 2000)

Talasemia merupakan suatu kelainan genetik yang paling banyak dijumpai di Indonesia, dengan gejala anemia ringan sampai berat dan sampai sekarang belum dapat diterapi kausal selain dengan transfusi darah. (Notopuro, 2000) Maka penderita talasemia merupakan kelompok risiko tinggi tertular VHG.

Pada penelitian ini dilakukan deteksi Virus Hepatitis G pada penderita thalasemia dengan teknik PCR dengan menggunakan primer dari daerah genoma 5'UTR dengan pertimbangan daerah 5'UTR merupakan daerah yang *conserved*, sehingga diharapkan dapat mendeteksi adanya virus hepatitis G lebih akurat. Hasil PCR yang positif dilanjutkan dengan analisis sekuens nukleotida. Rangkaian nukleotida dari daerah genoma 5'UTR selanjutnya digunakan untuk menentukan genotipe VHG dengan membandingkan dengan sekuens nukleotida yang sudah diketahui tipenya sehingga genotipe sampel dapat ditentukan.

Tujuan penelitian ini adalah untuk menentukan prevalensi genotipe VHG pada penderita thalasemia, selain dapat dipergunakan sebagai bahan pertimbangan dalam upaya pencegahan dan pengendalian penularan infeksi VHG. Hasil penelitian ini diharapkan juga memberikan gambaran bahwa penderita thalasemia yang mengalami transfusi dapat merupakan sumber penularan VHG dalam keluarga.

MATERI DAN METODE PENELITIAN

Sampel serum didapatkan dari 10 penderita thalasemia yang berobat di Poliklinik Ilmu Kesehatan Anak RSUD Dr. Soetomo Surabaya. Selanjutnya dilakukan pemeriksaan RT-PCR untuk mendeteksi adanya RNA VHG dengan menggunakan primer berdasar daerah genoma 5'UTR (Katayama *et al*, 1997). Sampel memberikan hasil PCR yang positif selanjutnya dilakukan pemurnian dan selanjutnya sekuensing nukleotida dengan metoda *direct sequencing* yang menggunakan Kit d-Rhodamin Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction dengan No. Lot: 9708003 atau Big Dye Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction Part No. 4303152 dengan menggunakan DNA sequenser ABI 310 Applied Biosystems, Inc.

Sekuens yang diperoleh kemudian dianalisis dengan dibandingkan terhadap sekuens nukleotida dari tipe VHG yang pernah dilaporkan, menggunakan program GENETYC MAC versi 8.0, kemudian dilakukan analisis kekerabatan (*phylogenetic analysis*) untuk menentukan tipe VHG.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Dari hasil deteksi virus hepatitis G dengan menggunakan primer dari daerah gen 5'UTR pada penderita thalasemia didapatkan 5 dari 10 (50%) sampel serum memberikan hasil pemeriksaan RNA VHG yang positif. (Tabel 1) Hasil ini sesuai dengan penelitian sebelumnya tentang deteksi virus hepatitis G dari daerah NS3 pada penderita thalasemia yang juga mendapatkan hasil 5 dari 10 (50%) sampel memberikan hasil pemeriksaan RNA VHG yang positif (Diyatri, *et al*, 2001)

Dari hasil analisis sekuens nukleotida sampel dengan membandingkan dengan sekuens nukleotida yang sudah diketahui tipenya, didapatkan 3 dari 5 (60%) termasuk dalam kelompok VHG genotipe 4 dan 2 dari 5 (40%) termasuk dalam kelompok VHG genotipe 5 (Tabel 1)

*Genotipe Virus Hepatitis G pada Penderita Thalasemia sebagai
Kelompok Risiko Tinggi Tertular Hepatitis G*

No Urut	Sampel	Hasil PCR (RNA VHG)	Genotipe VHG
1	Ind-Thal-1	Positif	4
2	Ind-Thal-2	Negatif	-
3	Ind-Thal-3	Negatif	-
4	Ind-Thal-4	Positif	4
5	Ind-Thal-5	Negatif	-
6	Ind-Thal-6	Negatif	-
7	Ind-Thal-8	Negatif	-
8	Ind-Thal-10	Positif	4
9	Ind-Thal-11	Positif	5
10	Ind-Thal-17	Positif	5
	Total	5/10 (50%)	

Tabel 1 : Hasil deteksi RNA VHG dan genotipe VHG pada penderita thalasemia dengan primer dari daerah genoma 5'UTR.

Analisis urutan nukleotida dari daerah 5'UTR menunjukkan bahwa sampel Ind-Thal-1 dan -4, keduanya menunjukkan homologi dengan virus hepatitis G genotipe 4 sebesar 99,5%, sedangkan sampel Ind-Thal-10 menunjukkan homologi sebesar 98,5% dengan virus hepatitis G genotipe 4 (gambar 1). Sampel Ind-Thal-1 dan -17 menunjukkan homologi sebesar 95,1% dengan virus hepatitis G genotipe 5 (gambar 2).

```

[ GENEVA-HCC : Nucleotide Sequence Homology Beta 3
Date : 1912.11.19

1st Nucleotide Sequence
File Name : IndBDS5-6R
Sequence Size : 205

2nd Nucleotide Sequence
File Name : Ind-Thal-3
Sequence Size : 205

Unit Size to Compare = 1
Pick up Location = 1

[99.5% / 205 bp] OPT. Score : = 814 >
1' TAGCCACTATAGGTGGGCTTAAGGGTGGGTCAGGCCACTCTTACGCCTCGGGGGGGAC
*****
17' TAGCCACTATAGGTGGGCTTAAGGGTGGGTCAGGCCACTCTTACGCCTCGGGGGGGAC
*****
61' AGCGCACGGTCCACAGGTGTGGCCCTACCGGTGTGAATAAGGGCCCGACGTACGGCTCG
*****
61' AGCGCACGGTCCACAGGTGTGGCCCTACCGGTGTGAATAAGGGCCCGACGTACGGCTCG
*****
121' TCGTTAAACCGAGCCCACTACCCACCCTGGGCAAAAGACGCCCAAGTACGGTCCACGTCCG
*****
121' TCGTTAAACCGAGCCCACTACCCACCCTGGGCAAAAGACGCCCAAGTACGGTCCACGTCCG
*****
181' CCTTCAATGCTCTCTTGACCAATA
*****
181' CCTTCAATGCTCTCTTGACCAATA

1st Nucleotide Sequence
File Name : IndBDS5-6R
Sequence Size : 205

2nd Nucleotide Sequence
File Name : Ind-Thal-4
Sequence Size : 205

Unit Size to Compare = 1
Pick up Location = 1

[99.5% / 205 bp] OPT. Score : = 814 >
1' TAGCCACTATAGGTGGGCTTAAGGGTGGGTCAGGCCACTCTTACGCCTCGGGGGGGAC
*****
17' TAGCCACTATAGGTGGGCTTAAGGGTGGGTCAGGCCACTCTTACGCCTCGGGGGGGAC
*****
61' AGCGCACGGTCCACAGGTGTGGCCCTACCGGTGTGAATAAGGGCCCGACGTACGGCTCG
*****
61' AGCGCACGGTCCACAGGTGTGGCCCTACCGGTGTGAATAAGGGCCCGACGTACGGCTCG
*****
121' TCGTTAAACCGAGCCCACTACCCACCCTGGGCAAAAGACGCCCAAGTACGGTCCACGTCCG
*****
121' TCGTTAAACCGAGCCCACTACCCACCCTGGGCAAAAGACGCCCAAGTACGGTCCACGTCCG
*****
181' CCTTCAATGCTCTCTTGACCAATA
*****
181' CCTTCAATGCTCTCTTGACCAATA

1st Nucleotide Sequence
File Name : IndBDS5-6A
Sequence Size : 205

2nd Nucleotide Sequence
File Name : Ind-Thal-10
Sequence Size : 205

Unit Size to Compare = 1
Pick up Location = 1

[98.5% / 205 bp] OPT. Score : = 802 >
1' TAGCCACTATAGGTGGGCTTAAGGGTGGGTCAGGCCACTCTTACGCCTCGGGGGGGAC
*****
17' TAGCCACTATAGGTGGGCTTAAGGGTGGGTCAGGCCACTCTTACGCCTCGGGGGGGAC
*****
61' AGCGCACGGTCCACAGGTGTGGCCCTACCGGTGTGAATAAGGGCCCGACGTACGGCTCG
*****
61' AGCGCACGGTCCACAGGTGTGGCCCTACCGGTGTGAATAAGGGCCCGACGTACGGCTCG
*****
121' TCGTTAAACCGAGCCCACTACCCACCCTGGGCAAAAGACGCCCAAGTACGGTCCACGTCCG
*****
121' TCGTTAAACCGAGCCCACTACCCACCCTGGGCAAAAGACGCCCAAGTACGGTCCACGTCCG
*****
181' CCTTCAATGCTCTCTTGACCAATA
*****
181' CCTTCAATGCTCTCTTGACCAATA

```

Gambar 1: Analisis Homologi isolat virus Hepatitis G pada penderita thalasemia sampel Ind-Thal-1, -4 dan -10 dibandingkan dengan tipe VHG yang pernah dilaporkan.

Genotipe Virus Hepatitis G pada Penderita Thalasemia sebagai Kelompok Risiko Tinggi Tertular Hepatitis G

```
[ GENEX-MAC : Nucleotide Sequence Homology Data ]
Date : 1912.11.19

1st Nucleotide Sequence
File Name : IndCh388-05
Sequence Size : 285

2nd Nucleotide Sequence
File Name : Ind-Thal-11
Sequence Size : 285

Unit Size to Compare = 1
Pick up Location = 1

[95.1% / 285 bp] OPT_Score : = 703
5' TAGCCACTATAGGTGGCTCTTAAAGGAGGATTAAGGCCCCCTTTTGGCTTGGGGGGGAA
*****
10' TAGCCACTATAGGTGGCTCTTAAAGGAGGAGTAAAGGCTTCTCTTTCACTTGGGGGGGAA
*****
61' CCGGCGGGTCCACAGGCTTGGCTCTTAAAGGAGGAGTAAAGGCTTCTCTTTCACTTGGGGGGG
*****
64' CCGGCGGGTCCACAGGCTTGGCTCTTAAAGGAGGAGTAAAGGCTTCTCTTTCACTTGGGGGGG
*****
121' TCGTTAAACCGAGCCATTACCCCTTGGGAGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGG
*****
124' TCGTTAAACCGAGCCATTACCCCTTGGGAGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGG
*****
181' CTTCAATGTCTCTTTGACCAATA
*****
184' CTTCAATGTCTCTTTGACCAATA

3rd Nucleotide Sequence
File Name : IndCh388-05
Sequence Size : 285

4th Nucleotide Sequence
File Name : Ind-Thal-17
Sequence Size : 285

Unit Size to Compare = 1
Pick up Location = 1

[95.1% / 285 bp] OPT_Score : = 703
5' TAGCCACTATAGGTGGCTCTTAAAGGAGGATTAAGGCCCCCTTTTGGCTTGGGGGGGAA
*****
10' TAGCCACTATAGGTGGCTCTTAAAGGAGGAGTAAAGGCTTCTCTTTCACTTGGGGGGGAA
*****
61' CCGGCGGGTCCACAGGCTTGGCTCTTAAAGGAGGAGTAAAGGCTTCTCTTTCACTTGGGGGGG
*****
64' CCGGCGGGTCCACAGGCTTGGCTCTTAAAGGAGGAGTAAAGGCTTCTCTTTCACTTGGGGGGG
*****
121' TCGTTAAACCGAGCCATTACCCCTTGGGAGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGG
*****
124' TCGTTAAACCGAGCCATTACCCCTTGGGAGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGG
*****
181' CTTCAATGTCTCTTTGACCAATA
*****
184' CTTCAATGTCTCTTTGACCAATA
```

Gambar 2: Analisis Homologi isolat virus Hepatitis G pada penderita thalasemia sampel Ind-Thal-11 dan -17 dibandingkan dengan tipe VHG yang pernah dilaporkan.

Analisis filogenetik menunjukkan bahwa sampel Ind-Thal-1, -4 dan -10 termasuk dalam kelompok virus hepatitis G genotipe 4, sedang sampel Ind-Thal-11 dan -17 termasuk dalam kelompok virus hepatitis G genotipe 5 (gambar 3). Hal ini tidak jauh berbeda dengan penelitian sebelumnya oleh Handajani dkk, yang menunjukkan bahwa 40% isolat VHG yang berasal dari populasi di Indonesia termasuk dalam genotipe 4 dan 40% termasuk dalam genotipe 5.

- Feucht, H. H., B. Zollner, S. Polywka, B. Knodler, M. Schroter, H. Nolte, and R. Laufs. 1997. Prevalence of hepatitis G viremia among healthy subjects, individuals with liver diseases, and persons at risk for Parenteral Transmission. *J. Clin. Microbiol.* 35:767-768.
- Handajani, R., Soetjipto, Lusida, M.I., Suryohudoyo, P., Adi, P., Setiawan, P.B., Nidom, C.A., Soemarto, Katayama, Y., Fuji, M., and Hotta, H. 2000. Prevalence of GB Virus C/Hepatitis G Virus Infection among Various Population in Surabaya, Indonesia, and Identification of Novel Groups of Sequence Variants. *J. Clin. Micro.* 38:662-668.
- Katayama, Y., C. Apichartpiyakul, R. Handajani, S. Ishido, and H. Hotta. 1997. GB virus C/hepatitis G (GBV-C/HGV) infection in Chiang Mai, Thailand, and identification of variants on the basis of 5'-untranslated region sequences. *Arch. Virol.* 142:2433-2445.
- Leary, T. P., A. S. Muerhoff, J. N. Simons, T. J. Pilot-Matias, J. C. Erker, M. L. Chalmers, G. G. Schlauder, G. J. Dawson, S. M. Desai, and I. K. Mushahwar. 1996. Sequence and genomic organization of GBV-C: a novel member of the Flaviviridae associated with human non-A-E hepatitis. *J. Med. Virol.* 48:60-67.
- Linnen, J., J. Wages Jr., Z.-Y. Zhang-Keck, K. E. Fry, K. Z. Krawczynski, H. Alter, E. Koonin, M. Gallagher, M. Alter, S. Hadziyannis, P. Karayiannis, K. Fung, Y. Nakatsuji, J. W.-K. Shih, L. Young, M. Piatak, Jr., C. Hoover, J. Fernandez, S. Chen, J.-C. Zou, T. Morris, K. C. Hyams, S. Ismay, J. D. Lifson, G. Hess, S. K. H. Fong, H. Thomas, D. Bradley, H. Margolis, and J. P. Kim. 1996. Molecular cloning and disease association of hepatitis G virus: a transfusion-transmissible agent. *Science* 271:505-508.
- Masuko, K., T. Mitsui, K. Iwano, C. Yamazaki, K. Okuda, T. Meguro, N. Murayama, T. Inoue, F. Tsuda, H. Okamoto, Y. Miyakawa, and M. Mayumi. 1996. Infection with hepatitis GB virus C in patients on maintenance hemodialysis. *N. Engl. J. Med.* 334:1485-1490.
- Nakatsuji Y., J. W. K. Shih, E. Tanaka, K. Kiyosawa, J. Wages Jr, J. P. Kim, and H. J. Alter. 1996. Prevalence and disease association of hepatitis G virus infection in Japan. *J. Viral Hepatitis* 3:307-316.
- Nigro G, Taliani G, Bartmann U, Vitolo R, Perrone T, Mattia S, Pisano P, Petruccellia, Maizzi S, and Midulla M. Hepatitis in children with thalassemia major. *Arch Virol* 1992 (Suppl)4: 265-267.
- Notopuro, H. 2000. Analisis molekuler variasi genetic thalasemia di RSUD Dr. Soetomo. (Disertasi)
- Tsuda, F., S. Hadiwandowo, N. Sawada, M. Fukuda, T. Tanaka, H. Okamoto, Y. Miyakawa, and M. Mayumi. 1996. Infection with GB virus C (GBV C) in patients with chronic liver diseases or on maintenance hemodialysis in Indonesia. *J. Med. Virol.* 49:248-252.