

Доц. Павел Теохаров¹, г-р Елица Голкочева-Маркова¹,

Диляна Трендева-Банкова¹,

проф. Татяна Червенякова²

¹Отдел по вирусология, Национален център по заразни и паразитни болести, София

²СБАЛИПБ „Проф. Ив. Киров“, София

Особености при диагностиката на остра хепатит С вирусна инфекция

Резюме

Въведение. По данни на Световната здравна организация (СЗО) около 185 милиона души по света са заразени с хепатит С вируса (HCV). В Източна Европа разпространението му възлиза на 2.9%, а в България anti-HCV позитивните лица са около 1%. Диагностиката на острата HCV инфекция е твърде затруднена предвид липсата на специфичен маркер.

Цел: Да се проследят маркерите на HCV инфекция при пациенти с недиференциран остър вирусен хепатит и да се представят данни за проучена вътреболнична HCV инфекция.

Материали и методи: Описани са пет случая на пациенти от СБАЛИПБ „Проф. Ив. Киров“ – София с клинична диагноза остър вирусен хепатит. Серумните проби са изследвани за маркери на хепатотропните вируси с търговски тестове, базирани на EIA метод. Наличието на HCV RNA се определя с тест Cobas TaqMan HCV (Roche Mol. Syst, Branchburg, USA).

Резултати и обсъждане: Анализът на проведените лабораторно-диагностични изследвания за доказване на специфичните маркери на HCV и други хепатотропни вируси показва, че двама от пациентите са с диагноза остър хепатит С, двама са с минала хепатит С инфекция и остра В инфекция, а при един пациент острата HCV инфекция не може да се потвърди независимо от наличието на HCV RNA. Представят се данни за проучена вътреболнична HCV инфекция.

Изводи: Диагнозата на острата HCV инфекция е комплексен процес, като е необходимо проследяване на сероконверсията срещу HCV и определяне на HCV RNA.

Ключови думи: остра HCV инфекция, диагностични маркери, anti-HCV, HCV RNA

Peculiarity Of The Diagnosis Of Acute Hepatitis C Virus Infection

Pavel Teoharov¹, Elitsa Golkocheva-Markova¹, Dilyana Trendeva-Bankova¹, Tatiana Tcherveniakova²

¹Department of Virology, National Centre of Infectious and Parasitic Diseases, Sofia

²SHATIPD „Prof. Ivan Kirov“, Sofia

Abstract

Introduction: According to the World Health Organization (WHO) about 185 million people worldwide are infected with hepatitis C virus (HCV). In Eastern Europe the spread of the virus is 2.9%, while in Bulgaria, anti-HCV positive people are around 1%. Diagnosis of acute HCV infection is very difficult, because of the lack of a specific marker.

Objective: To analyze the markers of HCV infection in patients with undifferentiated acute viral hepatitis and provide data on a nosocomial outbreak of acute HCV infection.

Materials and methods: We have analysed the data of a five patients from SBALIPB “Prof. Ivan Kirov”, Sofia with acute viral hepatitis. Serum samples were tested for the markers of hepatotropic viruses with commercial tests based on the EIA method. The presence of HCV RNA was determined by Cobas TaqMan HCV test (Roche Mol Syst, Branchburg, USA).

Results and discussion: The analysis of the specific markers of HCV and other hepatotropic viruses shows that two patients are with acute HCV infection, two are with past hepatitis C infection and acute B infection, and acute hepatitis C infection was not confirmed in one patient, despite presence of HCV RNA. Data on a nosocomial outbreak of acute HCV infection are presented.

Conclusion: The diagnosis of acute HCV infection is a complex process and it is necessary to perform monitoring of the seroconversion against HCV and determination of HCV RNA.

Key words: acute HCV infection, diagnostic markers, anti-HCV, HCV RNA

Увод

По данни на Световната здравна организация (СЗО) около 185 милиона души по света са заразени с хепатит С вируса (HCV), от които 350 000 умират годишно³. Разпространението на HCV варира в различните страни, като е най-високо в Централна и Източна Азия, Южна

Африка и Близкия изток. В Европа процентът на разпространение е: 2.4% – за Централна Европа (>2.9 милиона заразени), 2.9% – за Източна Европа (>6.2 милиона) и 2.4% – за Западна Европа (>10 милиона)⁴. Данни, публикувани от Европейския център за контрол и превенция на заболяванията (ECDC), показват разпространение на HCV в България от 1.3%³.

Въпреки че HCV е открит през 80-те години на миналия век, познанията върху острата хепатит С вирусна инфекция са възпрепятствани от две особености на инфекциозния процес, а именно: 1) само около 20% от инфектираните лица развиват симптоми на остра инфекция и 2) идентификацията и проследяването на тези, които са с повишен риск от развитие на HCV инфекция, е трудно. Най-често остра HCV се установява при провеждане на постекспозиционни проучвания или в резултат на установена сероконверсия при лица от високорискови групи, за които се знае, че са били отрицателни за наличие на антитела срещу HCV⁷. Няма създаден единен критерий за определяне на острата HCV инфекция, като острата фаза се дефинира до 6 месеца след придобиване на инфекцията⁶. Като маркери при клиничната диагноза могат да се използват и покачването на нивата на серумните аланинаминотрансферази (ALT) или наличието на жълтеница, но те се наблюдават само при 15 до 30% от пациентите, които развиват симптоматично остра хепатит С вирусна инфекция, като завишените ензимни стойности не могат да отгиференцират акутната от обострената хронична инфекция⁵. По литературни данни критериите за отгиференциране на острия HCV могат да се причислят към четири групи (табл. 1).

При проучване на вътреболнична HCV инфекция Пекова и съавтори¹⁰ използват следната комбинация от маркери: сероконверсия, завишени ALT, наличие на HCV RNA и симптоми. Понастоящем не съществува диагностичен тест, с който да може да се отгиференцира острата фаза на вирусния хепатит тип С.

Цел на настоящото проучване е да се проследят маркерите за отгиференциране на HCV инфекция при пациенти с диагноза остър вирусен хепатит.

Материали и методи

Описани са пет случая на пациенти от СБАЛИПБ „Проф. Ив. Киров“ – София с остър вирусен хепатит, чиито серумни проби са изпратени за диференциална диагностика на HCV инфекция в НРЛ по хепатитни вируси към Националния център за заразни и паразитни болести за периода 2012–2013 г. Серумните проби са серологично изследвани за наличие на маркери на остра инфекция на следните хепатотропни вируси: HBV (HBsAg и anti-HBc-IgM), HAV (anti-HAV IgM), HCV (anti-HCV) и HEV (anti-HEV IgM) чрез използване на тестове, базирани на имуноензимния (EIA) метод. За доказване на anti-HCV е използван четвърто поколение тест, използващ рекомбинантни антигени на HCV – core, NS3 и NS5, базиран на метода EIA. За положителни са определени серумните проби, чиито индекс (оптическа плътност на пробата, отнесена към граничната стойност – Cutoff) е ≥ 1.0 . Впоследствие пробите са подложени на доказване и определяне на концентрацията на HCV RNA посредством количествен PCR – Cobas AmpliPrep/Cobas TaqMan HCV, с чувствителност от $<1.50E + 01$ IU/mL до $>6.90E + 07$ IU/mL.

Група	Критерии	Брой проучвания (%) Общо n=131
Единична	Сероконверсия	55 (42.0)
Двойна	Сероконверсия + наличие на HCV RNA	22 (16.8)
	Сероконверсия + завишени ALT	18 (13.7)
	Сероконверсия + експозиция	9 (6.9)
	Сероконверсия + симптоми	2 (1.5)
	Сероконверсия + покачващ се титър на anti-HCV	1 (0.8)
Тройни	Сероконверсия + наличие на HCV RNA + завишени ALT	25 (19.1)
	Сероконверсия + наличие на HCV RNA + експозиция	4 (3.0)
	Сероконверсия + завишени ALT + експозиция	3 (2.3)
	Сероконверсия + завишени ALT + симптоми	2 (1.5)
	Сероконверсия + завишени ALT + флукутация на HCV RNA	1 (0.8)
Четворни	Сероконверсия + наличие на HCV RNA + завишени ALT + симптоми	6 (4.6)
	Сероконверсия + наличие на HCV RNA + завишени ALT + експозиция	1 (0.8)
	Сероконверсия + наличие на HCV RNA + експозиция + симптоми	1 (0.8)

Табл. 1. Комбинация от критерии за отгиференциране на остра хепатит С вирусна инфекция⁵

Резултати и обсъждане

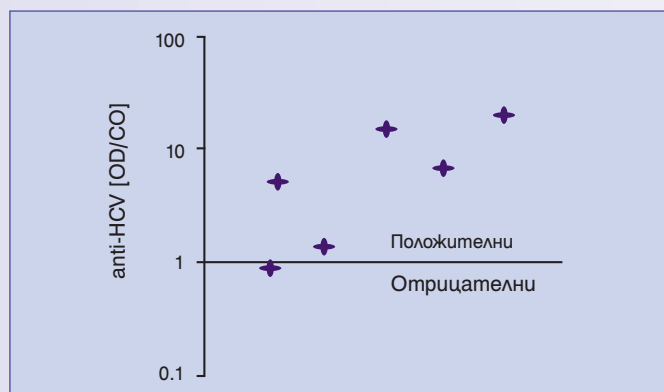
В резултат на проведените лабораторно-диагностични изследвания двама от пациентите са с доказана остра HCV инфекция, двама са с остра HBV инфекция и прекаран хепатит тип С с отрицателен резултат за наличие на HCV RNA. На табл. 2 са представени основните характеристики на пациентите съгласно тестираните маркери на хепатотропните вируси.

При първия пациент (№1) са изследвани две последователни серумни проби с интервал от 10 дни. Първата проба е дала отрицателен резултат за наличие на anti-HCV (фиг. 1, табл. 2). В същото време е доказано наличие на HCV RNA с концентрация $1.30E+06$ IU/mL (1 300 000). Втората серумна проба вече е положителна за наличие на антитела – индексът е 5.1, но концентрацията на вирусната RNA е намаляла с $3 \log_{10}$ ($4.03E+03$ IU/mL), което е показател за евентуално елиминиране на вируса. При остра HCV инфекция антитела се откриват около петашеста седмица от началото на инфекцията при преобладаващия брой имунокомпетентни инфектирани лица⁹. При проучване на вътреболничната HCV инфекция Пекова и съавтори¹⁰ определят период на сероконверсия от 40 до 44 дни след експозицията, в който се включва целият инкубационен период и част от периода на хоспитализация.

За диагностициране на HCV инфекция в практиката се използват EIA тестове за доказване на антитела срещу вируса в серум или плазма. Тези тестове

Пациент	HCV		HBV		Anti-HAV IgM	Anti-HEV IgM
	Anti-HCV индекс S/CO	HCV RNA [IU/mL]	HBsAg	Anti-HBc IgM		
№1 1.1/9.08.13	(-) (0.9)	1.30E+06	(-) омп.	NT	(-) омп.	(-) омп.
1.2/19.08.13	+ (5.1)	4.03E+03	(-) омп.	NT	(-) омп.	(-) омп.
№2 2.1/15.10.13	+ (1.4)	1.92E+04	(-) омп.	NT	(-) омп.	(-) омп.
2.2/02.07.14	+ (6.0)	NT	NT	NT	NT	NT
№3	+ (14.9)	4.44E+07	(-) омп.	(-) омп.	(-) омп.	(-) омп.
№4	+ (6.9)	(-) омп.	+	+	(-) омп.	NT
№5	+ (2.5)	(-) омп.	+	+	(-) омп.	NT

Табл. 2. Диагностична характеристика на изследваните пациенти; NT – не са изследвани.



Фиг. 1. Разпределение на пробите според anti-HCV индекс

се характеризират с редица предимства като: лесно приложение, автоматизиране на процеса и не са скъпи. Понастоящем се използва четвърто поколение тест, който се характеризира с по-висока чувствителност и скъсяване на прозоречния период (времето между последната отрицателна за антитела проба и първата положителна) за доказване на антитела след началото на инфекцията¹² (табл. 3).

Наличието на anti-HCV антитела както при налична, така и при минала инфекция затруднява значително диагностиката на острата HCV инфекция¹¹. При проведен PCR анализ за детекция на вирусната RNA и за активна репликация на HCV в отсъствие на антитялов отговор в първата серумна проба се доказва наличие на остра инфекция.

При втория пациент (№ 2) е изследвана серумна проба, която е дала положителен резултат за наличие на anti-HCV, като измереният индекс е 1.4, твърде близък до 1 (фиг. 1, табл. 2). Определената концентрация на HCV RNA е 1.92E+04 IU/mL (19 200). При пациента се наблюдава четирикратно увеличаване на индекса на anti-HCV антителата във втора проба, получена 9 месеца по-късно при контролен преглед. При третия пациент (№ 3) определянето на активна инфекция е базирано на комбинирането на два маркера – наличие на висок антитялов отговор (anti-HCV индекс 14.9) и детекция на

Поколение ELISA тест	Антигени	Прозоречен период
1-во поколение	Рекомбинантен NS4	16 седмици
2-ро поколение	Core, NS3, NS4	10 седмици
3-то поколение	Core, NS3, NS4, NS5	6–8 седмици

Табл. 3. Различни поколения имуоензимни тестове за доказване на anti-HCV

високи нива на HCV RNA – 4.44E+07 IU/mL (44 400 000), но не може да се определи времето на инфектиране.

Сероконверсията на anti-HCV е най-често използвания критерий като самостоятелен показател или в комбинация с: наличие на HCV RNA и покачване на нивата на серумните ALT за определяне на една инфекция с HCV като остра⁵.

В случаите на пациенти № 4 и 5 серологично се доказва наличие на остра хепатит В вирусна инфекция (наличие на anti-HBc IgM) с маркер (anti-HCV) на минала HCV инфекция. И двете серумни проби са положителни за anti-HCV, като индексът е съответно 6.9 и 2.5. След провеждане на PCR анализ се доказва, че пробите са отрицателни за HCV RNA. Предполага се, че носителството на HBV може да е предпоставка за спонтанно изчистване на HCV², като според някои автори високите серумни нива на HBsAg се явяват допълнителен предсказващ маркер¹³. В същото време са описани случаи на подобрение с последващ релапс на остра HCV инфекция при пациенти с едновременно положителна серология по отношение на HCV и HBV¹, което налага по-продължително проследяване.

Заклучение

Диагнозата на острата HCV инфекция е комплексен процес, който е затруднен от естеството на самото заболяване и невъзможността на серологичните тестове (anti-HCV) да диференцират настоящата от отминала инфекция. Ето защо при пациенти, за които се предполага наличие на остра инфекция, е необходимо проследяване на сероконверсията на антителата срещу HCV, определяне на промените в серумните нива на ALT и задължително определяне на концентрацията на HCV RNA.

Литература

- Coppola N., Marrocco C., Caprio D.D., Coviello G., Scolastico C., et al. Acute hepatitis B and C virus coinfection: a virological and clinical study of 3 cases. *Clin Infect Dis.* 2003;36:528-532.
- Day CY., Huang JF., Hsieh MY., Lee LP., Ho CK., Chuang WL., et al. The role of gender on clearance of hepatitis C virus: a differential story in an area endemic for hepatitis B and C. *Gut.* 2007;56:737-738.

Пълната библиографска справка е на разположение в издателството и може да бъде представена при поискване.