

Univerzita Karlova v Praze
Farmaceutická fakulta v Hradci Králové
katedra biologických a lékařských věd



Laboratorní diagnostika infekčních zánětů jater

(bakalářská práce)

Hradec Králové, 2006

Ivana Šífová

2004

1. 11.

2.

1. 11.

2004 r. 11.

2004 r. 11.

2004 r. 11.

2004

Za pomoc a rady teoretické i praktické bych chtěla poděkovat MVDr. V. Fejtovi (Nemocnice Havlíčkův Brod).

Obsah

1 Úvod	5
2 Teoretická část	6
2.1 <i>Laboratorní metody – obecné principy</i>	6
2.2 <i>Hepatitida A</i>	8
2.2.1 Charakteristika viru.....	8
2.2.2 Klinický průběh.....	8
2.2.3 Komplikace a prognóza.....	8
2.2.4 Terapie.....	9
2.2.5 Diagnostika.....	9
2.3 <i>Hepatitida B</i>	11
2.3.1 Charakteristika viru.....	11
2.3.2 Klinický průběh.....	13
2.3.3 Komplikace a prognóza.....	13
2.3.4 Terapie.....	14
2.3.5 Diagnostika.....	15
2.4 <i>Hepatitida C</i>	17
2.4.1 Charakteristika viru.....	17
2.4.2 Klinický průběh.....	18
2.4.3 Komplikace.....	18
2.4.4 Terapie.....	19
2.4.5 Diagnostika.....	19
2.5 <i>Hepatitida D</i>	21
2.5.1 Charakteristika viru.....	21
2.5.2 Klinický průběh.....	21
2.5.3 Komplikace.....	22
2.5.4 Terapie.....	22
2.5.5 Diagnostika.....	22
2.5.6 Profylaxe.....	22
2.6 <i>Hepatitida E</i>	24
2.6.1 Charakteristika viru.....	24

2.6.2	Klinický průběh.....	24
2.6.3	Komplikace.....	24
2.6.4	Terapie.....	24
2.6.5	Diagnostika	24
2.7	<i>Hepatitida F</i>	25
2.8	<i>Hepatitida G</i>	25
2.9	<i>Další hepatotropní agens</i>	26
2.9.1	Cytomegalovirus.....	26
2.9.2	Virus Epstein – Barr	28
2.9.3	Leptospirové infekce	30
2.9.4	Lidský herpes virus 6.....	30
2.9.5	Adenovirus	31
2.9.6	Zarděnky - rubeola	32
2.9.7	Příušnice – parotitis epidemica	32
2.9.8	Spalničky - morbilli	33
2.9.9	TT virus	34
2.9.10	Sen virus	34
3	Závěr.....	35
	<i>Seznam zkratk</i>	36
	<i>Použitá literatura</i>	38

1 Úvod

Infekční záněty jater jsou způsobeny virovými a bakteriálními agens. Záněty jater jsou významné, jelikož játra mají důležitou úlohu v intermediárním metabolismu, proto jejich selhání nebo poškození vede k narušení a ohrožení organismu jako celku. Poškození jaterního parenchymu se projevuje hepatomegalií, ikterem nebo jinými příznaky.

Z virových agens, které postihují jaterní parenchym, jsou nejvýznamnější viry hepatitid. Dále zástupci čeledi Herpesviridae – cytomegalovirus, virus Epstein – Barrové. Herpes simplex virus a Varicella – zoster virus způsobují jaterní poškození pouze u imunosuprimovaných pacientů. Ke zvýšení jaterních testů dochází u příušnic, rubeoly, infekce adenoviry a coxsackie viry, jaterní poškození je zde ale vzácné. Z bakteriálních onemocnění sem můžeme zařadit leptospirové infekce, popřípadě syfilis, u kterého se vyskytuje tzv. „hepatitis – like syndrom“.

Pro laboratorní diagnostiku zánětů jater je důležité biochemické vyšetření, tzv. „jaterní testy“, které posuzují aktivitu jaterních enzymů. Pro infekční hepatitidy jsou však velmi důležitá imunologicko - serologická vyšetření, kterými lze zjistit, jaké infekční agens chorobu způsobuje, v jakém stádiu onemocnění se pacient nachází a jak odpovídá na terapii.

V práci budou rozebrána nejdůležitější agens, která způsobují tyto stavy. Dále se budu zabývat diagnostikou jednotlivých onemocnění a novými poznatky v tomto oboru.

2 Teoretická část

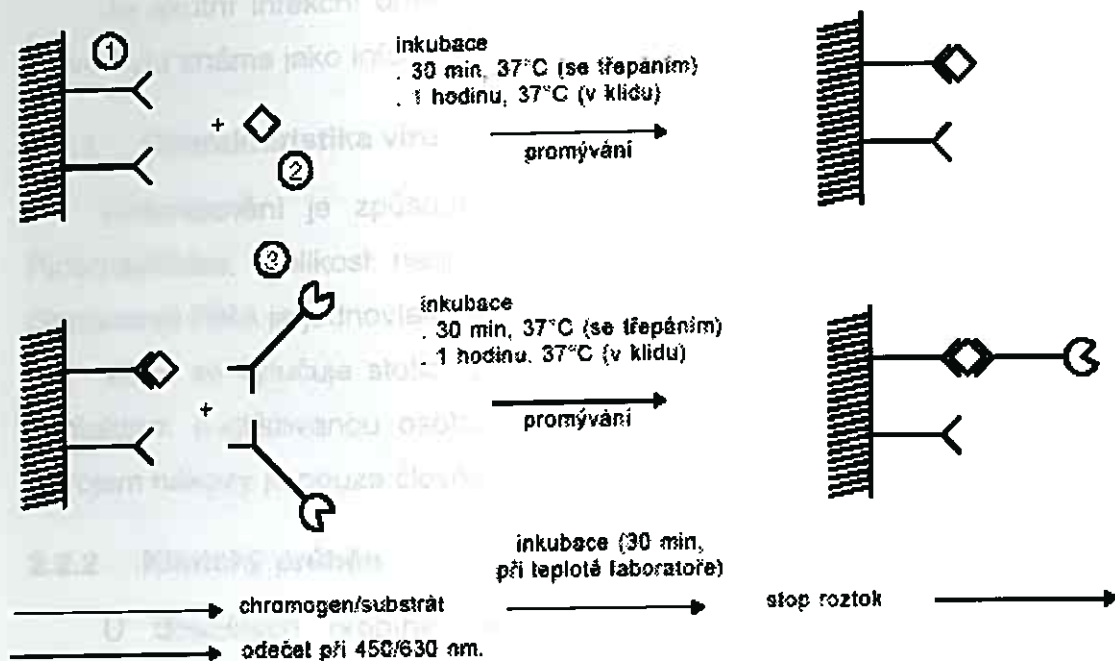
2.1 Laboratorní metody – obecné principy

Laboratorní metody se rozdělují na metody přímého průkazu, zde prokazujeme přímo infekční agens nebo jejich části (nukleové kyseliny, antigeny), a metody nepřímého průkazu, kde se prokazují specifické protilátky.

Do přímých metod patří izolace viru na buněčných kulturách, kde pomnožený virus prokazujeme neutralizačním testem, imunohistochemicky nebo mikroskopicky sledováním cytopatického efektu. Elektronovou mikroskopií viry identifikujeme na základě charakteristických morfologických a imunologických vlastností. Tyto dvě metody se v rutinní praxi nepoužívají pro svoji finanční a technickou náročnost. V poslední době se nejvíce rozvíjí metoda PCR (polymerase chain reaction), kterou prokazujeme nukleové kyseliny. Jedná se o enzymatickou amplifikaci DNA in vitro syntézou mnoha kopií vybrané sekvence DNA v cyklické reakci o třech teplotních fázích. Namnožená nukleová kyselina je detekována elektroforézou. PCR je vysoce specifická a senzitivní metoda, ale vlivem snadné kontaminace je zde vysoké riziko falešně pozitivních výsledků. Pro průkaz nukleových kyselin lze také použít hybridizaci.

V dnešní době jsou v laboratořích nejčastěji používané metody enzymoimunoanalýzy (EIA). Tuto metodu lze zařadit do metod přímého i nepřímého průkazu, jelikož můžeme prokázat jak antigen tak specifické protilátky. Nejvyužívanější testem je ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay). Základním principem je reakce protilátky (Ab) s antigenem (Ag), kdy jedna z těchto složek je imobilizována na imunosorbent (polystyrénové jamky). Volná (nenavázaná) fáze je odstraněna promytím. Po promytí se provádí detekce enzymové aktivity komplexu vázaného na pevné fázi (Mančal, 1983). Je několik typů technik ELISA, pro kvantifikaci antigenů a protilátek se používá sendvičová metoda (viz. obr.1). Technika „IgM capture“ se používá pro stanovení protilátek IgM v přítomnosti IgG protilátek stejné specifity. Tyto testy jsou velice citlivé a je možná jejich automatizace.

Obr.1 Schéma sendvičové metody pro průkaz HBsAg



1. Jamka potažená myší monoklonální protilátkou anti - HBs
2. HBsAg ve vzorku nebo v kontrole
3. Protilátka značená enzymem (anti – HBs a peroxidáza)

Méně využívanou, ale velmi kvalitní metodou, je nepřímá imunofluorescence (NIF). Na pevné fázi, sorbentu, je upevněn antigen, na který se vážou protilátky. Fluorochromem značené anti-imunoglobuliny se naváží na sérové protilátky. Výsledek se odečítá pod fluorescenčním mikroskopem. Tuto metodu nelze automatizovat a je značně subjektivní (závislá na zkušenostech odečítatele).

Další metodou nepřímého průkazu je komplement – fixační reakce (KFR) neboli reakce vazby komplementu, která se využívá při průkazu protilátek proti cytomegaloviru (CMV). Metoda je založena na vyvazování komplementu z reakční směsi specifickými komplexy Ag – Ab. Působíme-li na erythrocyty sérem obsahujícím protilátky proti těmto erythrocytům, získáme erythrocyty s navázanou protilátkou (senzibilizované erythrocyty). (Acta hygienica, 1984) Komplement, který se v dostatečném množství vyváže na takto senzibilizované erythrocyty, způsobí jejich lýzu. Pokud ale byl komplement před přidáním erythrocytů vyvážen komplexem Ag – Ab, k lýze nedochází.

2.2 Hepatitida A

Je akutní infekční onemocnění jater, které je rozšířeno po celém světě. Dříve byla známa jako infekční žloutenka nebo „nemoc špinavých rukou“.

2.2.1 Charakteristika viru

Onemocnění je způsobováno RNA virem rodu Hepatovirus z čeledi Picornaviridae. Velikost neobalené virové partikule je okolo 27 – 33 nm. Genomová RNA je jednovláknová.

Virus se vylučuje stolicí, proto je přenos fekálně – orální, ať už přímým kontaktem s infikovanou osobou, nebo s infikovanými potravinami a vodou. Zdrojem nákazy je pouze člověk.

2.2.2 Klinický průběh

U dospělých probíhá jako akutní onemocnění, které se většinou spontánně vyhojí. Inkubační doba je okolo 15 - 50 dní a pak se objevují prodromální příznaky: únava, malátnost, gastrointestinální příznaky a chřipce podobné příznaky. V dalším stádiu se u pacienta objevuje tmavá moč, acholická stolice a pruritus kůže. Vlastní onemocnění trvá zpravidla 2 – 4 týdny. Ve fyzikálním nálezu může být přítomen ikterus, hepatomegalie, méně častá splenomegalie a artralgie.

U dětí jde o onemocnění benigní, častý je inaparentní průběh. Přibližně u 10% dětí je přítomen ikterus. Nejčastějšími příznaky jsou bolesti břicha, průjem a teplota.

2.2.3 Komplikace a prognóza

Po akutní fázi ve většině případů následuje uzdrava a zůstává dlouhodobá imunita. Přibližně 85% pacientů se plně zotaví během 3 měsíců, zbývající část obvykle nejpozději do 6 měsíců od propuknutí infekce (Krekulová, 2002).

U starších pacientů se vzácně vyskytuje cholestatická forma, která je charakterizována vleklým ikterem s cholestatickými rysy a pruritem. Asi u 5% pacientů s virovou hepatitidou A (VHA) dochází k relapsu s opětovným vzestupem hladin transamináz. I přes tyto komplikace onemocnění končí úplnou úzdavou a nikdy nepřechází do chronicity. Celosvětově umírá na VHA přibližně 1 pacient z 1000, častěji ve vyšších věkových skupinách (Krekulová, 2002).

2.2.4 Terapie

Léčba akutní hepatitidy A je pouze symptomatická, spočívá v zabránění dalšího poškození hepatocytů a jejich regeneraci. Nejčastěji podávaná hepatoprotektiva jsou rostlinného původu, jedná se především o esenciální fosfolipidy a silymarin (Husa, 2005).

Součástí léčby je dieta, kde je většina tuků nahrazena cukry a je zde nekompromisní zákaz požívání alkoholu. Dále se snažíme o vyřazení hepatotoxických léků z medikace. Důležité je i režimové opatření v podobě tělesného a duševního klidu pacienta.

Proti VHA je možné se chránit aktivní nebo pasivní imunizací. Podávají se živé atenuované vakcíny nebo lidský imunoglobulin. Imunoglobuliny infekci nezabrání, ale zmírní projevy onemocnění.

2.2.5 Diagnostika

Asi dva týdny před vlastním propuknutím onemocnění je stolicí vylučován HAV antigen. Po vymizení antigenu ze stolice můžeme v séru detekovat protilátky antiHAV - IgM, které přetrvávají 2 – 4 měsíce, ale postupně převládají antiHAV – IgG. Protilátky typu IgG jsou známkou trvalé imunity.

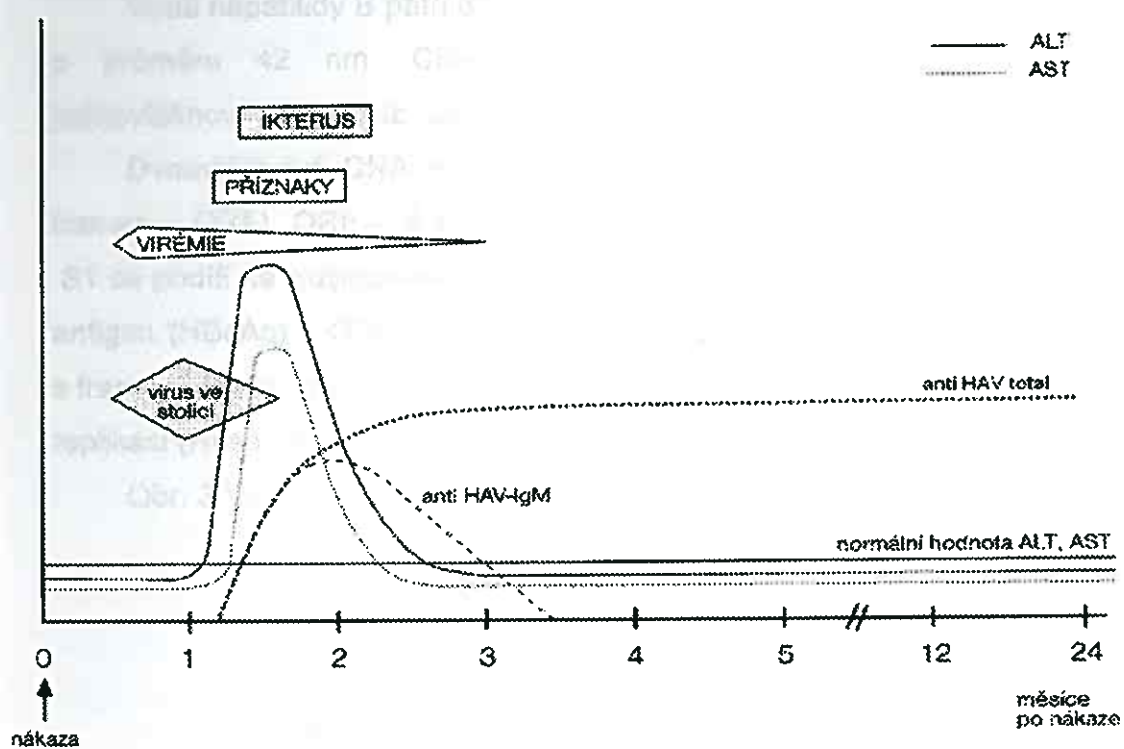
Obecně diagnóza hepatitidy spočívá převážně na sérologickém vyšetření, ale přispívají k ní i data z anamnézy, klinický nález a výsledky biochemických testů. V biochemickém nálezu nacházíme zvýšení hodnot aminotransferáz (ALT, AST) až na 30 – 50 násobek horní hranice. Současně dochází ke zvýšení bilirubinu a γ -glutamyltransferázy (GMT).

Základním sérologickým vyšetřením je stanovení antiHAV – IgM metodou ELISA, které může být doplněno stanovením celkových protilátek proti HAV. Přímý průkaz viru se diagnosticky neprovádí.

Tab. 1 Sérologické nálezy u VHA

Diagnóza	antiHAV - IgM	antiHAV - IgG	anti - HAV total
- akutní VHA	+	-	+
- stav po nedávno proběhlé VHA	+	+	+
- stav po VHA	-	+	+
- stav po očkování	-	+	+
- neimunní stav	-	-	-

Obr. 2 Schéma průběhu VHA



2.3 Hepatitida B

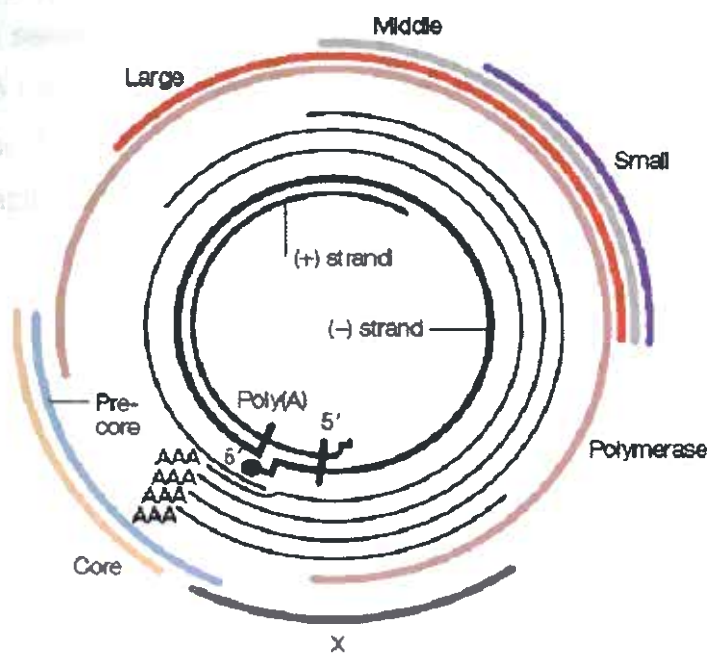
Virová hepatitida typu B je velmi závažné onemocnění, které je velkým zdravotnickým problémem převážně v rozvojových zemích. Odhaduje se, že na světě je nyní infikováno 350 – 400 miliónů lidí. Jen ve Spojených státech amerických ročně zemře následkem infekce virem hepatitidy B (HBV) 5000 – 6000 lidí. Proto je hepatitida B celosvětově devátou až desátou nejčastější příčinou smrti.

2.3.1 Charakteristika viru

Virus hepatitidy B patří do čeledi Hepadnaviridae. Je to obalený DNA virus o průměru 42 nm. Cirkulární molekula nukleové kyseliny obsahuje jednovláknové úseky (viz. Obr. 3).

Dvouvláknová DNA obsahuje čtyři otevřené čtecí rámce (open reading frames – ORF). ORF – S kóduje povrchový antigen viru (HBsAg). Úsek pre – S1 se podílí na rozpoznání viru receptory hepatocytů. ORF - C kóduje dřeňový antigen (HBcAg) a ORF – P enzym DNA polymerázu. ORF – X kóduje protein s transkripční a transaktivační funkcí, pravděpodobně se vztahem k virové replikaci (Husa, 2005).

Obr. 3 Virový genom HBV



Dřeň viru je tvořena v jádře hostitelské buňky, obsahuje dřeňový antigen (HBcAg) a antigen nazývaný „e“ (HBeAg). Povrchové částice (HBsAg) jsou tvořeny v cytoplazmě.

Podle kompletní analýzy nukleotidových sekvencí lze rozlišit 8 genotypů (A - H) HBV. Jednotlivé genotypy mají různou geografickou distribuci a zatím není známo, zda infekce různými genotypy ovlivňuje průběh onemocnění.

U viru mohou vznikat mutace v čtecích rámcích. Nejvýznamnější jsou mutace biologické, které mění vlastnosti viru. Hlavní mutanty viru hepatitidy B jsou precore mutanta, escape mutanta a lamivudinem indukovaná YMDD mutanta. Precore mutanta má záměnu v precore oblasti genomu (guanin za adenin) a tím je inhibována translace HBeAg. Pacienti mají negativní HBeAg, pozitivní HBsAg, HBV DNA a protilátky anti-HBe. U escape mutanty dochází k substituci glycinu za arginin na podjednotce HBsAg. Tato záměna vede ke ztrátě neutralizačních vlastností protilátek anti-HBs.

Mutanty mohou ovlivňovat klinický průběh onemocnění a zvyšovat pravděpodobnost vzniku fulminantní hepatitidy. Přítomnost HBeAg v séru z tohoto důvodu stala méně užitečným indikátorem aktivní infekce (Husa, 2005). Virus není přímo hepatolytický. K poškození hepatocytů dochází sekundárně působením cytotoxických T lymfocytů a NK buněk, které se aktivují imunitní odpovědí organismu.

Infekce je přenášena sexuálním stykem a parenterálně, zdrojem je infikovaný člověk, který virus vylučuje již v inkubační době. Virus se vyskytuje v tělních sekretech (např. sperma, pot, sliny) a krvi. Možný je i přenos vertikální, případně i horizontální mezi rodinnými příslušníky. Infekce HBV je považována za velmi častou pohlavně přenosnou chorobu, která je však jako jediná preventabilní očkováním.

2.3.2 Klinický průběh

Virová hepatitida může probíhat buď akutní formou nebo asymptomatickou formou, která častěji přechází v chronickou formu. Procento akutní formy stoupá se zvyšujícím se věkem pacientů.

Inkubační doba onemocnění je v průměru 60 – 90 dní. V prodromálním stádiu se vyskytují necharakteristické příznaky podobné chřipce: únava, gastrointestinální obtíže, bolesti kloubů. U 5% pacientů se v této fázi vyskytují obtíže vyvolané cirkulujícími imunokomplexy: artralgie, exantémy, angioedém. Po propuknutí vlastního onemocnění se příznaky stupňují, dále se vyskytuje acholická stolice, tmavá moč a pruritus kůže. Ve fyzikálním nálezu se vyskytuje hepatosplenomegalie a ikterus, vzácně kožní exantémy, lymfadenopatie. Akutní fáze trvá obvykle 4 – 6 týdnů. Tato forma končí ve většině případů uzdravením a po prodělaném onemocnění zůstává dlouhodobá imunita.

U inaparentního průběhu jsou příznaky nespecifické (únava, nechutenství, váhový úbytek) a fyzikální nález je také chudý.

2.3.3 Komplikace a prognóza

Mezi komplikace virové hepatitidy B (VHB) řadíme fulminantní průběh, přechod do chronicity, cirhózu jater a hepatocelulární karcinom.

Fulminantní průběh infekce je časnou komplikací, která se rozvíjí v důsledku příliš intenzivní imunitní reakce. Dochází k jaternímu selhání, které je obtížně zvladatelné a proto je jednou z indikací k transplantaci jater. Je to velmi obávaná komplikace, ale pokud je překonána akutní fáze dochází k sérokonverzi a k uzdravě.

Chronickou hepatitidou je označován stav, kdy HBsAg pozitivita trvá déle než 6 měsíců. Podle aktivity replikace viru jsou pacienti řazeni do 2 skupin.

První skupinou jsou „asymptomaticí nosiči“. Tyto osoby mají pozitivní HBsAg a anti-HBe, normální hodnoty aminotransferáz a nevýrazný histologický nález. Může však u nich dojít k reaktivaci virové replikace.

Druhou skupinou jsou pacienti HBsAg a HBeAg pozitivní, neboli s perzistující aktivní replikací. V séru mají přítomny protilátky anti-HBc IgM, titry jsou však nižší než u akutní fáze, dále markery virové replikace HbeAg a HBV DNA. V jaterním parenchymu dochází k zánětlivým změnám, proto se může již během několika málo let rozvinout jaterní cirhóza. Tito pacienti jsou trvalým zdrojem infekce.

Do chronicity přechází u dospělých přibližně ve 2 – 6% případů. Jde většinou o pacienty s mírným nebo inaparentním průběhem akutní fáze onemocnění, kde patrně vlivem nedostatečné aktivace a souhry imunitního systému nedojde k eliminaci infekčního agens z organismu (Krekulová, 2002). U infekcí přenesených vertikálně přechází do chronicity až 90% případů.

Cirhóza jater vzniká v důsledku zánětlivých změn jaterního parenchymu. Hepatocyty jsou nahrazovány vazivem a může dojít až k ireverzibilnímu poškození a následně k jaternímu selhání. Vzniká po dlouholetém trvání VHB (10 – 15 let). U nemocných s chronickou VHB byla také prokázána souvislost mezi kancerogenezí a VHB. Hepatocelulární karcinom se u pacientů s VHB vyskytuje podstatně častěji, než u pacientů neinfikovaných. Je jedinou jaterní malignitou, jejíž výskyt lze ovlivnit vakcinací.

2.3.4 Terapie

Terapie akutní hepatitidy B spočívá ve stejných opatřeních jako u terapie akutní VHA. U chronické hepatitidy jsou nejpoužívanějšími preparáty interferon α (INF- α) a lamivudin. U interferonu se využívá protivirových a imunomodulačních účinků, které vedou k potlačení virové replikace. Lamivudin způsobuje útlum syntézy virové DNA a to vede ke snížení hladin HBV DNA v séru.

Pro vakcinaci se používají rekombinantní vakcíny. Řadu let se vakcinují rizikové skupiny obyvatelstva (zdravotníci, pacienti léčení hemodialýzou a další). Od roku 2001 jsou očkováni novorozenci a děti, které dovrší v daném roce 12 let. Hyperimunní imunoglobulin se podává novorozencům HBV pozitivních matek.

2.3.5 Diagnostika

Diagnóza hepatitidy B je založena na detekci sérologických markerů. Průkaz těchto markerů umožňuje rozlišovat stav minulé nebo probíhající infekce HBV, zda se jedná o akutní nebo chronickou fázi onemocnění. Dále dovoluje sledovat odpověď na terapii a imunní stav nemocného.

V akutní fázi onemocnění je v séru prokazatelný HBsAg a časné protilátky antiHBc – IgM. HBsAg postupně vymizí a vytvoří se protilátky anti-HBs, pokud však antigen přetrvává jedná se o chronický stav. Problémy s diagnostikou mohou nastat v období tzv. „diagnostického okna“, kdy HBsAg již není prokazatelný, ale protilátky anti-HBs se doposud netvoří. V tomto případě se diagnóza opírá pouze o přítomnost antiHBc – IgM. Protilátky anti-HBs jsou známkou dlouhodobé imunity. AntiHBc – IgM jsou postupně nahrazeny protilátkami typu IgG, které jsou v séru detekovatelné doživotně, proto se využívají jako marker prodělané infekce. Během virové replikace lze také v séru prokázat HBeAg a HBV DNA. Osoby s pozitivním HBeAg se pokládají za vysoce infekční a perzistence tohoto antigenu je často doprovázena zvýšenou hladinou aminotransferáz. Po vymizení antigenu „e“ se začnou syntetizovat protilátky proti tomuto antigenu, což značí normální úzdravu v případě akutní hepatitidy, ve stavu chronické fáze vypovídá o zlepšení stavu pacienta a vymizení aktivní infekce.

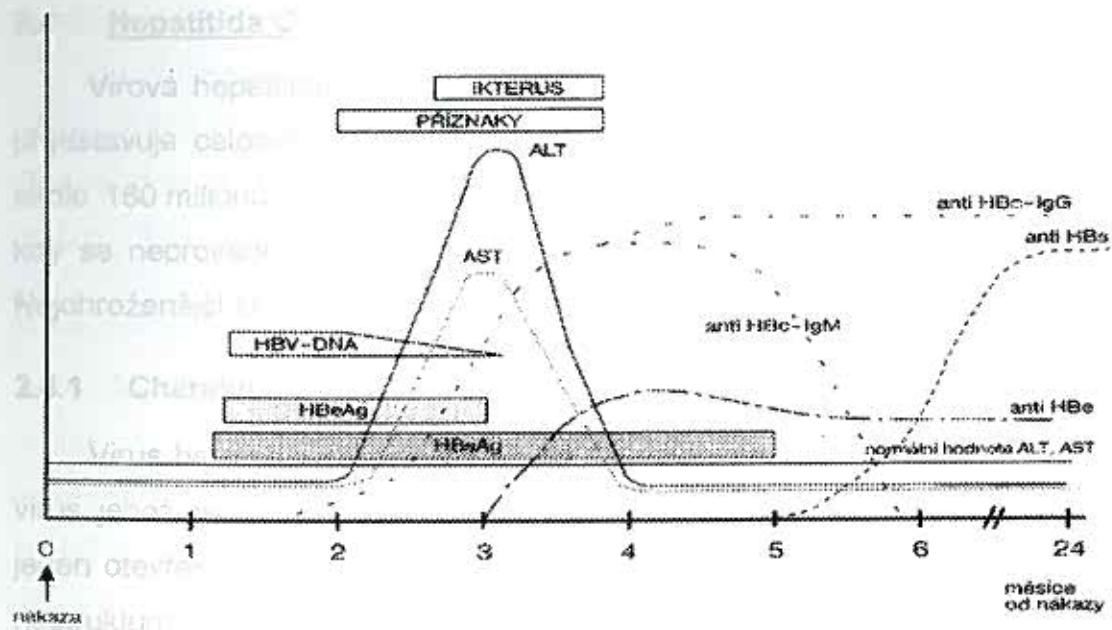
Jako screeningové vyšetření se provádí průkaz HBsAg a konfirmační test u HBsAg reaktivních vzorků. Screeningové vyšetření se využívá při monitoringu dárců krve, čímž se snižuje riziko potransfuzních hepatitid. V základním diagnostickém vyšetření jsou stanovovány tyto markery: HBsAg, HBeAg, anti-HBe, anti-HBc, antiHBc – IgM, antiHBs a dále se provádí konfirmační test. Všechny markery jsou prokazovány metodou ELISA. U této metody mohou interferovat nespecifické látky nebo artefakty v reagentech, proto se používá konfirmační test, který omezuje riziko falešně reaktivního výsledku, protože jeho pozitivita je dána pouze přítomností HBsAg nikoli přítomností interferující látky. Průkaz virové DNA v krvi se provádí metodou PCR nebo hybridizací se značenou sondou. Tento přímý průkaz je využíván u monitorování efektu léčby a pro indikaci chronické VHB k léčbě INF - α .

U hepatitidy B dochází k elevaci sérových transamináz až na 30 násobek normy, ALT bývá zvýšeno více než AST. Následuje vzestup bilirubinu, alkalické fosfatázy (ALP) a GMT, cirkulujících imunokomplexů, železa a mědi. U těžkého průběhu může dojít k poruše syntézy bílkovin, což vede k jejich poklesu v séru.

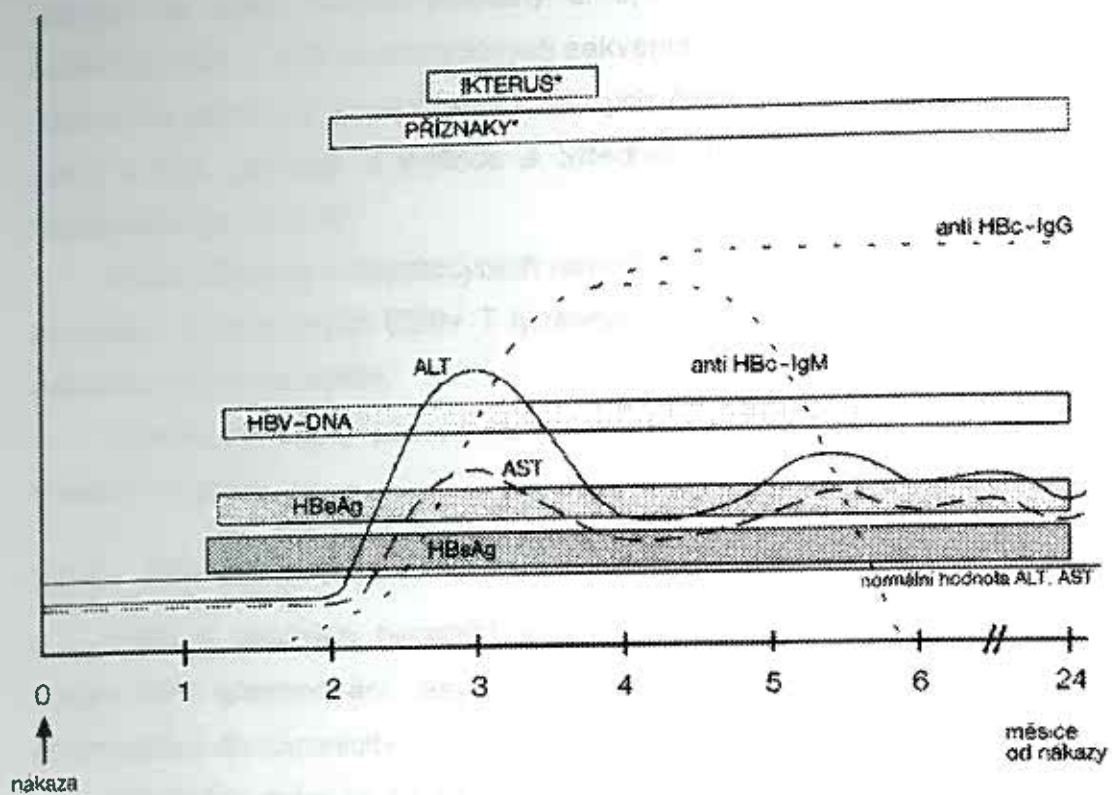
Tab.2 Serologické nálezy u VHB

Diagnóza	HBsAg	HBeAg	antiHBe- IgM	antiHBe- IgG	antiHBe	antiHBs	HBV DNA
- akutní VHB	+	+/-	+	-	-	-	+
- akutní VHB ve fázi diagnostického okna	-	+/-	+	-	+/-	-	-/+
- chronická VHB	+	+/-	-	+	+/-	-	+
- stav po VHB s úplnou sérokonverzí	-	-	-	+	+	+	-
- asymptomatické nosičství bez známek virové replikace	+	-	-	+	+	-	-
- stav o vakcinaci proti VHB	-	-	-	-	-	+	-

Obr. 4 Schéma průběhu akutní VHB



Obr. 5 Schéma průběhu chronické VHB



2.4 Hepatitida C

Virová hepatitida typu C (VHC) je velmi závažným onemocněním, které představuje celosvětový zdravotnický problém. Na celém světě je infikováno okolo 180 miliónů osob. Většina postižených se infikovala v 70. – 80. letech, kdy se neprovádělo rutinní sledování krevních transfúzí a krevních derivátů. Nejohroženější skupinou jsou dnes intravenózní narkomani.

2.4.1 Charakteristika viru

Virus hepatitidy C (HCV) patří do čeledi Flaviviridae. Je to obalený RNA virus, jehož genom dosahuje délky asi 9600 nukleotidů. Genom obsahuje pouze jeden otevřený čtecí rámec, ze kterého jsou přepisovány všechny strukturní a nestrukturní proteiny. To znamená, že nejdříve vzniká jeden polyproteinový prekurzor, který je dále opracován vlastními proteolytickými enzymy. Velikost viru je přibližně 55 – 65 nm.

Virus má několik genotypů a subtypů. Genotypy jsou číslovány od 1 – 6 a subtypy se značí malými písmeny a, b, Variabilita genotypů je dána odlišností v 31 – 34% nukleotidových sekvencí, u subtypů v 20 – 23% sekvencí. Jednotlivé genotypy se vyskytují v různých částech světa, např. genotyp 3 je častý v Indii, genotyp 4 v Africe a Středním Východě. V České republice je nejčastější typ 1a a 1b.

Virus přítomný v hepatocytech navodí imunitní reakci hostitele, která vede ke vzniku cytotoxických CD8+ T lymfocytů a NK buněk. Tyto buňky způsobují destrukci jaterních buněk.

Onemocnění je přenosné hlavně parenterálně, dále pohlavním stykem a z matky na plod.

2.4.2 Klinický průběh

Většina akutních hepatitid je asymptomatická, symptomaticky probíhá pouze 25% onemocnění. Asymptomatictí pacienti mají větší riziko přechodu onemocnění do chronicity.

Inkubační doba je 15 až 160 dní. Vyskytují se nespecifické prodromální příznaky: únava, malátnost, bolesti kloubů, vzácně gastrointestinální obtíže. Symptomaticky probíhající infekce je provázena ikterem v méně než 25%, což snižuje možnost záchytu onemocnění. Anikterický průběh může být doprovázen hepatomegalií, splenomegalií a projevy imunokomplexového postižení.

Do chronicity přechází 80 – 90% případů a kolem 15% nakažených se spontánně uzdraví. Po eliminaci viru zůstávají v organismu specifické Th lymfocyty a cytotoxické lymfocyty. Protilátky antiHCV jsou prokazatelné pouze u 5 až 10% pacientů.

2.4.3 Komplikace

Hlavní komplikací tohoto onemocnění jsou chronické infekce, které se vyskytují až u 85% nemocných. Většinou probíhá asymptomaticky, hodnoty jaterních enzymů však bývají zvýšeny. V histologickém nálezu se vyskytuje jak mírná hepatální léze, tak těžká jaterní cirhóza. Rozvoj následků chronické infekce je pomalý (15 – 30 let). Toto onemocnění je nejčastějším důvodem transplantace jater. Po transplantaci však dochází k opětovnému infikování štěpu.

U chronické VHC jsou časté extrahepatální projevy. Nejčastějším projevem je kryoglobulinémie, kdy dochází k precipitaci séra, která se projevuje purpurou, slabostí a nedestruktivní artritidou. Dále mohou být postiženy ledviny membranoproliferativní glomerulonefritidou, vyskytují se lymfomy a vaskulitidy.

2.4.4 Terapie

Léčba akutní hepatitidy spočívá v podávání INF α s cílem zabránit přechodu onemocnění do chronicity.

Při terapii pacienta s chronickou hepatitidou se snažíme dosáhnout dvou cílů. Zprvė navodit trvalou imunitní odpověď, která se vyznačuje vymizením HCV RNA ze séra. Zadruhé, u pacientů s jaterní cirhózou, se snažíme o potlačení progresu jaterního postižení a snížit riziko vzniku hepatocelulárního karcinomu. Nejmodernější terapií je kombinace pegylovaného INF α a ribavirinu. Účinná vakcína proti HCV zatím nebyla vyrobena.

2.4.5 Diagnostika

Pro virovou hepatitidu C svědčí přítomnost specifických protilátek antiHCV a HCV RNA v séru. AntiHCV je detekovatelná až za několik týdnů po nákaze, tudíž v období diagnostického okna může být vyšetření negativní. Protilátky přetrvávají i po eliminaci virové RNA, ale nezajišťuje ochranu proti reinfekci nebo relapsem. Stanovení protilátky antiHCV IgM se v praxi neprokázalo jako přínosné. Pro diagnózu akutní VHC není směrodatné, protože antiHCV IgM může být přítomna jak v období akutní, tak chronické infekce (Krekulová, 2002).

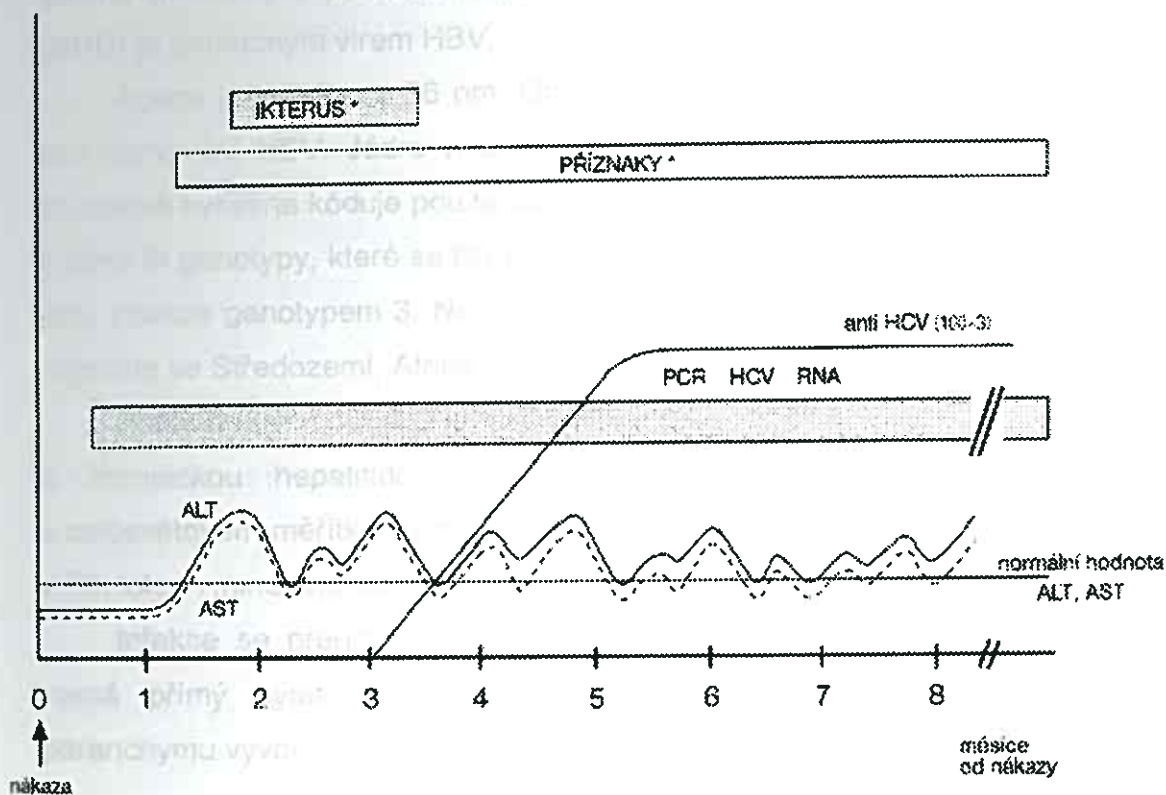
AntiHCV je detekována metodou ELISA, HCV RNA pomocí PCR nebo hybridizací. Jako konfirmační test u HCV reaktivních vzorků se používá imunoblotting.

ALT a AST jsou u akutní VHC zvýšeny až na 20násobek hranice, u chronické formy pouze na 3násobek hranice. Jejich hladina v průběhu onemocnění různě kolísá (viz. obr. 6). Zároveň dochází k vzestupu ALP, GMT, markerů zánětu a bilirubinu. Elevace jaterních testů však není pro diagnózu VHC rozhodující.

Tab. 3 Sérologické nálezy u VHC

Diagnóza	antiHCV	HCV RNA
- akutní VHC (<7 týd. od nákazy)	-	+
- akutní VHC (>7 týd. od nákazy), - chronická VHC	+	+
- stav po VHC, - falešně pozitivní nález antiHCV, - nízká virémie při chronické VHC	+	-

Obr. 6 Schéma průběhu chronické VHC



2.5 Hepatitida D

Onemocnění je vyvoláno virem hepatitidy D (HDV) tzv. delta agens. V České republice je toto onemocnění vzácné, ale vyskytuje se u cizinců žijících na našem území.

2.5.1 Charakteristika viru

Virus je více podobný virům rostlinné říše, ale nověji je zařazován do zvláštní čeledi Deltaviridae. Jedná se o satelitní virus, což znamená, že ke svému množení a přenosu potřebuje pomocný virus. U virové hepatitidy D (VHD) je pomocným virem HBV.

Agens je velké cca 36 nm. Obal je tvořen lipidy a HBsAg, který je nutný pro formování HDV. Jádro viru je tvořeno vlastním antigenem HDAg a RNA. Nukleová kyselina kóduje pouze jeden virový protein, a to HDAg. Doposud jsou známy tři genotypy, které se liší v 30 – 40% sekvencí nukleotidů. Nejzávažnější jsou infekce genotypem 3. Nejčastěji se vyskytuje genotyp 1, který je rozšířen zejména ve Středozeří, Africe, Evropě a Americe.

Podle hrubých odhadů je celosvětově infikováno HDV asi 50% nemocných s chronickou hepatitidou B. Podle epidemiologických šetření dochází v celosvětovém měřítku k postupnému vyhasínání epidemie HDV, která začala v 70. letech minulého století.

Infekce se přenáší převážně parenterální cestou. HDV pravděpodobně nemá přímý cytotoxický efekt. Zánětlivé a nekrotické změny jaterního parenchymu vyvolává vlastní imunitní systém.

2.5.2 Klinický průběh

Inkubační doba onemocnění je 30 – 180 dnů. U infikovaného mohou nastat dvě situace.

1. Koinfekce HDV a HBV, kdy je pacient nakažen oběma viry současně. V séru pacienta pak nalézáme pozitivní HBsAg a po několika dnech i anti - HD IgM. V této situaci dochází k úplnému uzdravení, protože po eliminaci HbsAg dojde zároveň k vymizení HDV.

2. Druhou situací je superinfekce HDV na chronickou infekci HBV. Ta se projevuje akutní exacerbací chronické VHB s rychlou progresí do jaterní cirhózy. Nejdříve se vyznačuje vysokou HDV virémií, jejíž vrchol koinciduje s objevením anti-HD IgM. V druhé fázi dochází ke vzestupu anti-HD IgG protilátek.

2.5.3 Komplikace

Koinfekce HDV/HBV může vést při velmi těžkém průběhu hepatitidy k fulminantnímu zvratu a následnému jaternímu selhání. Prognóza je pak u 80% pacientů infaustní. U superinfekcí je častý přechod do chronického stádia (více než 70% případů), kdy dochází k rychlému rozvoji jaterní cirhózy.

2.5.4 Terapie

Léčba je pouze podpůrná, u fulminantního průběhu se přistupuje k jaterní transplantaci. Specifická léčba proti HDV není doposud k dispozici. K eliminaci HDV dojde pouze po úplném vymizení HBsAg, který je však přítomen ve vysokých titrech i u léčených pacientů s VHB. Používají se dva preparáty – lamivudin a interferon α , s nevýraznými účinky.

2.5.5 Diagnostika

U akutně probíhající hepatitidy nalézáme v séru HDAg nebo virovou RNA. Jejich přítomnost v séru je krátkodobá, proto jsou prokázány pouze u 40% pacientů. Několik dnů po infekci se v séru objevují anti-HD IgM a s malým odstupem i anti-HD IgG. S uzdravením protilátky vymizí.

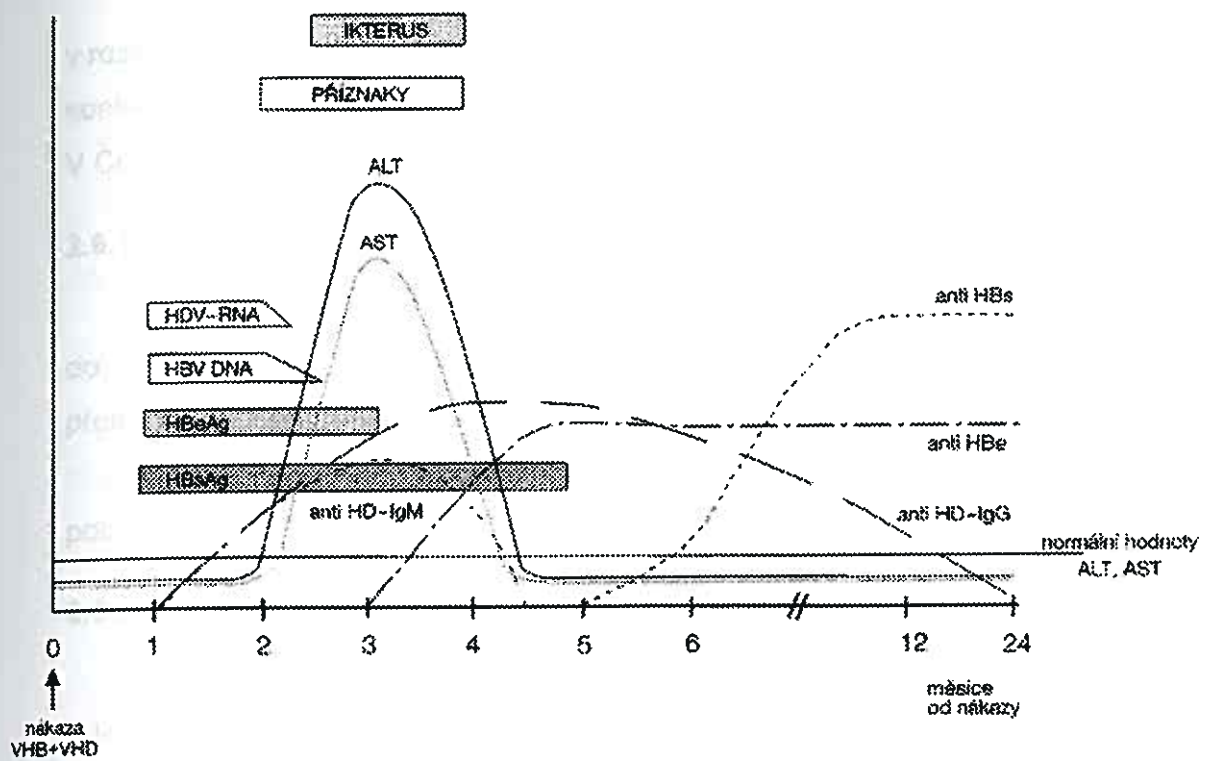
Při přechodu obou hepatitid do chronické formy nacházíme v séru HDV RNA, HDAg a anti-HD protilátky, samozřejmě i markery chronické infekce HBV.

Podmínkou pro diagnostiku HDV, jak už vyplývá z výše uvedeného, je přítomnost HBV. Opět se používá ELISA. Přímý průkaz se v ČR neprovádí.

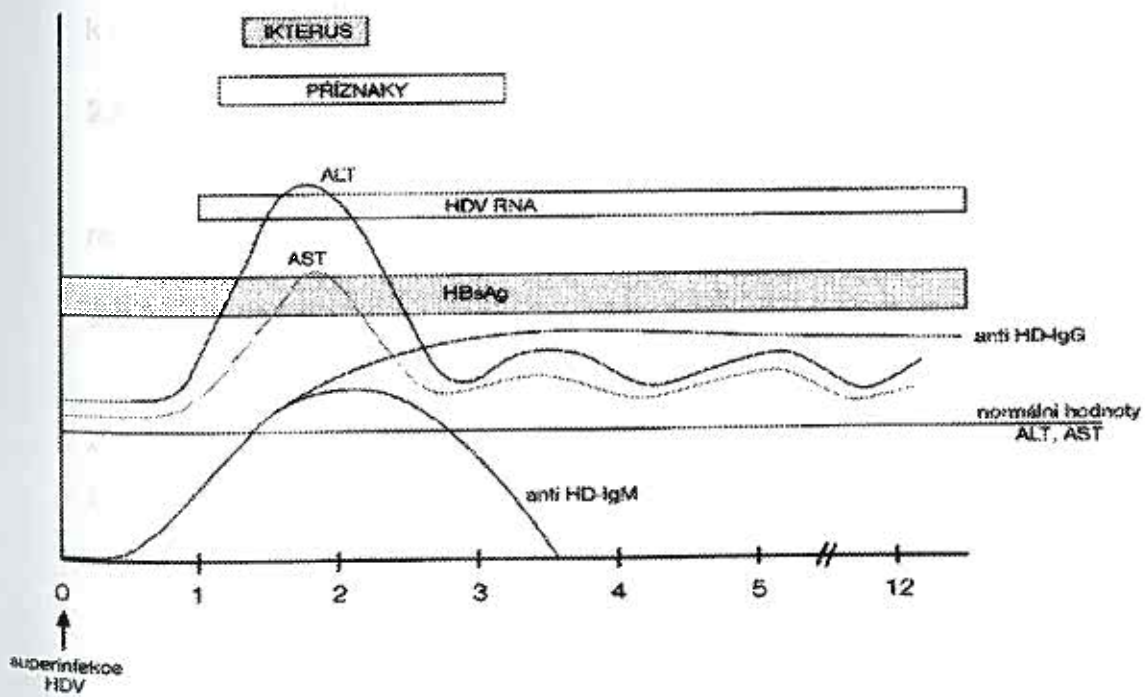
2.5.6 Profylaxe

Obecná preventivní opatření jsou stejná jako u VHB a VHC. Aktivní nebo pasivní imunoprofylaxe není k dispozici. Vzhledem k tomu, že HDV je přítomen pouze za současné infekce HBV, je neúčinnější profylaxí očkování proti hepatitidě B.

Obr. 7 Schéma průběhu koinfekce HBV/HDV



Obr. 8 Schéma průběhu superinfekce HBV/HDV



2.6 Hepatitida E

Virus hepatitidy E (HEV) způsobuje epidemie i sporadická onemocnění v rozvojových zemích. Z historie jsou známy epidemie způsobené kontaminovanou vodou. Onemocnění je svým průběhem velmi podobné VHA. V České republice se vyskytuje pouze jako importovaná nákaza.

2.6.1 Charakteristika viru

Neobalený RNA virus má velikost okolo 27 – 34 nm. Dříve byl zařazován do čeledi Calciviridae, ale nyní je taxonomicky nezařazen. RNA obsahuje tři překrývající se otevřené čtecí rámce. Jsou známy 4 genotypy a jeden sérovar.

Virus se přenáší fekálně - orální cestou, většinou infikovanou vodou a potravinami. Zdrojem infekce může být i zvěř (např. vepřiči nebo krysy).

2.6.2 Klinický průběh

Onemocnění probíhá cholestatickou formou hepatitidy, která spontánně odezní. V séru nemocného prokazujeme protilátky anti – HEV. Po vyléčení tyto protilátky ihned mizí, proto není známo, zda po prodělaném onemocnění zůstává celoživotní imunita.

2.6.3 Komplikace

Komplikace nastávají převážně u gravidních žen, kdy dochází k fulminantnímu zvratu s mortalitou až 20%.

2.6.4 Terapie

Léčba se neliší od léčby ostatních hepatitid. Samozřejmě s ní souvisí režimová opatření a zákaz požívání alkoholu.

2.6.5 Diagnostika

Celkové protilátky proti HEV (anti – HEV) prokazujeme testem ELISA. Je zde omezená diagnostická hodnota vyšetření, bez rozlišení akutní a anamnestické protilátkové odpovědi, a sporná specifika stanovení.

2.7 Hepatitida F

U člověka nebyla prokázána. Označení vzniklo historicky podle viru, vykultivovaného ze stolice francouzského pacienta (proto F) infikovaného hepatitidou. Virus byl inokulován opicím Makak Thesis u nichž následně došlo k rozvoji virové hepatitidy. Později však bylo zjištěno, že stejný virus vyskytuje i ve stolici zdravých opic. U člověka se pravděpodobně jednalo jen o náhodný nález (Krekulová, 2002).

2.8 Hepatitida G

Virus hepatitidy G (HGV) byl popsán teprve v roce 1995. Základ pro objevení položil již v roce 1967 vědec Fridrich Deinhardt. Sérem nemocného pacienta infikoval opice, u kterých se v roce 1995 prokázaly specifické nukleotidové sekvence virů HGBV-A, HGBV-B a HGBV-C.

Virus patří do čeledi Flaviviridae. Obsahuje RNA s pozitivním vláknem. Nestrukturní úseky genomu kódují helikázu, dvě proteázy a RNA - dependentní RNA polymerázu.

Virus se přenáší hlavně parenterálně, ale byl prokázán i přenos pohlavním stykem a vertikálně. Častá je i duální infekce HGV a HBV nebo HCV. Role v jaterní patologii není doposud zcela objasněna, HGV pravděpodobně nepůsobí hepatotropně.

Akutní hepatitida probíhá mírnou formou, biochemické a histologické nálezy bývají v normě. Názory na souvislost onemocnění s chronickým a fulminantním průběhem se velice liší. I když bylo provedeno několik studií, tato souvislost nebyla přímo prokázána.

K léčbě je používán INF α samotný nebo v kombinaci s ribavirinem, tato kombinace však není příliš účinná. Po skončení antivirové léčby často dochází k virologickému relapsu.

2.9 Další hepatotropní agens

2.9.1 Cytomegalovirus

Cytomegalovirus je členem podčeledi Betaherpesviridae. Velikost viru je okolo 180 až 200 nm a má oválný tvar. Dvouvláknová DNA je rozdělena na dvě domény: dlouhá U_L a krátká U_S , jejich vzájemná orientace umožňuje vznik čtyř izomerů genomu. Virová kapsida má ikozahedrání strukturu, kterou formuje 162 hexagonálních kapsomer. Uvnitř kapsidy je lokalizováno virové jádro složené z proteinů, na které je navinuta molekula DNA. Kapsidu obklopuje amorfní vrstva proteinů, jež se nazývá tegument.

Virus, který pronikne do buňky, nejdříve syntetizuje nestrukturní bílkoviny a teprve po syntéze DNA vznikají virion - strukturní bílkoviny. Cytopatický efekt je zřetelný až po 5 až 21 dnech. CMV se v těle množí ve slinných žlázách, ledvinách a respiračním epitelu. K primární infekci může dojít kdykoliv během života, virus poté perzistuje v organismu celý život, můžeme ho nalézt v B lymfocytech. Reaktivace je běžná, virus je vylučován slinami a močí, eventuálně se může infekce přenášet i spermatem, cervikálním a poševním sekretem či mateřským mlékem.

Kongenitální infekce je asymptomatická u 95% dětí, ale 15% dětí později trpí hluchotou a mají snížený intelekt, zřejmě progresí latentní infekce virem (Greenwood, 1999). Kongenitální infekce se projevuje opožděným růstem, hepatosplenomegalii, žloutenkou a postižením orgánů CNS.

Postnatální infekce je ve většině případů inaparentní. Případně se může projevit jako respirační infekce u kojenců nebo jako mononukleóza v mládí. Mononukleóza se projevuje zánětem jater, horečkou, atypickou lymfocytózou, lymfadenopatie nejsou obvyklé. Histologicky jde o akutní hepatitidu různého rozsahu.

K terapii jsou používána antivirotika, ale díky jejich vedlejším účinkům pouze v nezávažnějších případech. Podává se ganciklovir, experimentálně foscarnet, který inhibuje syntézu DNA. Aciklovir je u CMV infekcí neúčinný.

IgM jsou syntetizovány několik týdnů po infekci, hladina postupně stoupá a během 4 až 6 měsíců postupně vymizí. O jeden týden později po IgM dochází k syntéze IgG. Protilátky IgM diagnostikují akutní infekci CMV, která je obtížně identifikovatelná podle symptomů. U imunodeficientních pacientů může reaktivace indukovat tvorbu IgM, proto tento typ imunoglobulinů nelze použít k rozlišení primární a sekundární infekce. Stanovení IgM také dovoluje stanovit adekvátní terapii. Pomocí IgG rozlišíme pacienty s proběhlou a neproběhlou infekcí, což je užitečné ke zvolení profylaxe u citlivých pacientů.

V základním sérologickém vyšetření jsou stanovovány protilátky IgM a IgG proti CMV. Nejpoužívanější metodou je opět ELISA, popřípadě může být použita nepřímá imunofluorescence, u které je však možná interference revmatoidního faktoru nebo virového Fc receptoru. Celkové protilátky se stanovují pomocí KFR v párových vzorcích. Interpretace nálezu využívá posun titrů párových sér. Pro přímou detekci viru se používá kultivace na tkáňových kulturách s identifikací pomocí neutralizačního testu nebo imunohistochemicky. Dále PCR, hybridizace nebo elektronová mikroskopie.

2.9.2 Virus Epstein – Barr

Tento obalený DNA virus je zařazen do čeledi Herpesviridae a podčeledi Gammaherpesviridae. Kompletní virion je velký asi 120 nm a má kubickou kapsidu. Genom je tvořen lineární dvouřetězcovou DNA, kóduje asi 90 proteinů.

Životní cyklus viru je složen z latentní a lytické fáze. Latentní fáze umožňuje viru dlouhodobou perzistenci v těle hostitele. Infikuje B lymfocyty, do kterých včleňuje svůj genom a dochází k produkci nestrukturálních proteinů. V lytické fázi nestrukturální antigeny spustí produkci strukturálních proteinů a povrchových glykoproteinů, dochází k replikaci. Tento proces probíhá v diferencovaných epiteliálních buňkách slinných žláz, epitelu nasopharyngu, bronchů a cervixu. Kompletní virové částice jsou vylučovány do slin.

EBV je etiologické agens infekční mononukleózy a dále se vyskytuje u Burkittova lymfomu, nasofaryngeálního karcinomu a X – lymfoproliferativního syndromu. Virus je rozšířen celosvětově a přibližně 95% populace je infikováno. Přenáší se převážně orální cestou, proto je infekční mononukleóza také nazývána „nemocí z líbání“. Není však vyloučen přenos krví či pohlavním stykem.

Infekční mononukleóza postihuje nejčastěji osoby od 15 – 25 let. U malých dětí probíhá většinou asymptomaticky. Inkubační doba onemocnění je 30 – 45 dní. Klinicky se onemocnění projevuje jako povlaková angína s lymfadenopatií, dále jako hepatomegalie, která doprovází asi 50% případů, a splenomegalie (u 75% případů). Onemocnění trvá 2 – 4 týdny, výjimečně může přecházet do chronické formy s myalgiemi, faryngitidou a lymfadenopatií.

Terapie je symptomatická, u těžkých forem se podávají kortikoidy. Postižení jater vyžaduje dietní opatření a snížení fyzické aktivity.

V krevním nálezu nacházíme lymfocytózu, leukocytózu a atypické lymfoidní monocyty. Vzácně se vyskytuje autoimunitní hemolytická anémie a trombocytopenie.

Hodnoty bilirubinu a aminotransferáz jsou zvýšeny u více jak 50% případů. Vzestup hodnot je však menší než u akutní hepatitidy. Hladina albuminu může být snížena.

V serologické diagnostice se zaměřujeme na průkaz heterofilních protilátek nebo specifických protilátek proti virovým antigenům. Obvykle se stanovují IgG proti VCA (virový kapsidový antigen), IgG proti EBNA1 (EB virový nukleární antigen 1) a IgM proti VCA. Alternativou může být stanovení IgG a IgM proti EA (časný antigen viru EB) a IgG proti EBNA1.

Heterofilní protilátky se stanovují Paul – Bunnellovou reakcí nebo Ericksonovou zkouškou. V prvním případě se jedná o reakci na principu přímé hemaglutinace, kdy beraní erythrocyty jsou aglutinovány heterofilními protilátkami. Test bývá pozitivní již během prvního týdne onemocnění a zůstává pozitivní 3 – 6 měsíců. Ericksonův OCH test je založen na principu komplement – fixační reakce, ale bez použití antigenu. V tomto testu používáme hovězí erythrocyty, které jsou senzibilizovány heterofilními protilátkami a lyzovány komplementem. Za průkazný se považuje titr 1:40 a vyšší.

Specifické protilátky se stanovují metodou ELISA. Pro stanovení IgG a IgM se používají sety s navázaným antigenem (VCA p 18, EBNA1 nebo EA). Pro stanovení IgM se používá „capture ELISA“, kde na myší protilátku IgG se váže lidské IgM a do reakce se přidává syntetický polypeptid VCA p18.

Primární infekce se projevuje přítomností VCA IgM, které během 2 až 3 měsíců vymizí. Zároveň stoupá hladina VCA IgG, které přetrvávají neomezeně. EBNA IgG se objevují až několik týdnů po začátku onemocnění a přetrvávají celý život. Pokud se zároveň s nimi vyskytují protilátky VCA IgM a IgG, vypovídá to o přechodu infekce do rané rekonvalescence.

Pro přímý průkaz viru se používá PCR, průkaz virové DNA v biopsii pomocí hybridizace in situ nebo průkaz virových antigenů v biopsii imunohistochemickými metodami. PCR se používá při diagnostice lymfoproliferativních onemocnění u imunodeficientních pacientů, chronické aktivní infekce EBV, neurologických komplikací spojených s EB virovou infekcí a při monitorování reakce na léčbu (Roubalová, 2000).

2.9.3 Leptospirové infekce

Leptospiry řadíme mezi spirochety. Pro nás je významný druh *Leptospira interrogans*, sérovar *icterohaemorrhagiae*, který způsobuje Weilovu nemoc.

Parazitické leptospiry se normálně vyskytují v ledvinách hlodavců a malých savců, jsou vylučovány močí. Do organismu hostitele pronikají oděrkami kůže, nosní nebo ústní sliznicí při kontaktu s vodou nebo půdou. Pomnožují se v krvi a dostávají se do celého těla.

Weilova nemoc je těžké, smrtelné onemocnění, projevující se žloutenkou a hemoragiemi v oku, v kůži a ve sliznicích. Inkubační doba je 5 – 12 dnů. Léčí se penicilinem, při alergii na penicilin, tetracyklinem, erytromycinem nebo streptomycinem. Pokud jsou léky podávány od začátku onemocnění a v dostatečném množství je léčba úspěšná.

Po inkubační době lze leptospiry prokázat v krvi, kde přetrvávají asi týden, pomocí mikroskopie v temném poli. Dále se vylučují močí asi 4 – 6 týdnů, kde je prokážeme opět mikroskopicky. Leptospiry lze kultivovat při 28 – 32 °C v tekuté půdě asi 2 – 3 týdny.

Protilátky se objevují během týdne, postupně hladina stoupá a poté klesá. Zbytková hladina se udržuje po několik let. Sérum se vyšetřuje v pětidenních intervalech, aby se zachytil vzestup titru, jenž prokazuje diagnózu (Greenwood, 1999). Pro stanovení se používá reakce vazby komplementu, sklíčková aglutinace a test hemolýzy senzibilizovaných krvinek. Specifické protilátky se stanovují metodou ELISA.

2.9.4 Lidský herpes virus 6

Lidský herpes virus 6 (HHV6) byl objeven v roce 1989 v periferních lymfocytech pacienta s AIDS. Je členem podčeledi *Betaherpesviridae*. Rozlišujeme typ A a B. Hostitelskými buňkami jsou T lymfocyty, NK buňky, epitelie (slinné žlázy, ledviny, plíce), buňky CNS a endotelie. Typ A je více neurotropní, typ B hematotropní.

Virus lze detekovat u 90% dospělých jedinců. Přenáší se slinami, většinou z matky na dítě. Infekce se nejčastěji vyskytuje v 6 – 20. měsíci života. Ve většině případů probíhá bezpříznakově nebo se projevuje jako exanthem subitum (6. dětská nemoc), průjem, febrilní křeče a lymfadenopatie. Komplikacemi je meningitis, encefalitis a hepatitis. HHV6 se často reaktivují při infekcích jinými patogeny nebo po transplantacích.

Diagnóza je stanovena na základě sérologického vyšetření IgG a IgM protilátek (NIF, ELISA), kde mohou zkříženě reagovat CMV a lidský herpes virus 7. Průkaz DNA v periferní krvi nebo ve slinách se provádí pomocí PCR. Pro přímou diagnostiku se virus pomnožuje v krátkodobých kulturách periferních T lymfocytů. U malých primoinfikovaných dětí v akutní fázi onemocnění často chybí protilátková odpověď. Séronegativita v těchto případech proto neznamena vyloučení infekce.

2.9.5 Adenovirus

Adenovirus (AV) je dvouvláknový DNA virus s ikozahedrání kapsidou o velikosti 70 – 90 nm. Je známo 41 sérotypů AV. Sérotypy 1 – 39 jsou přenášeny přes respirační a oční sekreci. Sérotyp 40 a 41 se přenáší fekálně orální cestou a jsou proto často spojeny s gastroenteritidami v dětském věku. Adenovirus je způsobitelem těchto klinických syndromů: akutní respirační onemocnění, faryngitida, pneumonie, gastroenteritida, konjunktivitida, keratokonjunktivitida, akutní hemoragická cystitida a hepatitida. Většina infekcí je asymptomatických.

Základem sérologického vyšetření je stanovení celkových protilátek proti AV (KFR) a IgG proti AV (ELISA), oboje v párových vzorcích séra. U závažných diagnóz je možno stanovit IgM proti AV metodou ELISA. U gastroenteritid se virus prokazuje ve stolici jednoduchou aglutinací.

2.9.6 Zarděnky - rubeola

Rubivirus je jednovláknový RNA virus, patřící do čeledi Togaviridae. Onemocnění má obvykle mírný průběh, zřídka doprovázený komplikacemi a většina případů je subklinická. Infekce se projevuje jako horečka, nevolnost, makulopapulární exantém a lymfadenopatie. Infekce navozuje celoživotní imunitu. Pokud dojde k infekci v prvních 4 měsících gravidity u neimunní matky, může být ohrožen plod. Vrozené zarděnky způsobují závažné vady jedince (oční zákal, hluchota hepatosplenomegalie, kardiopatie, retardace).

Syntéza specifických IgM dosahuje vrcholu po dvou týdnech po erupci exantému a přetrvávají 1 až 2 měsíce. Týden po IgM se v séru začínají objevovat protilátky IgG, jejichž koncentrace rapidně stoupá. Po 10 týdnech klesají na hladinu, která zůstává celý život.

Sérologické vyšetření zahrnuje stanovení IgG a IgM protilátek metodou ELISA. Přímý průkaz viru se provádí elektronovou mikroskopií na základě charakteristických morfologických vlastností. Stanovení protilátek slouží ke zjištění imunity u gravidních žen a tím provádět vhodnou profylaxi.

2.9.7 Příušnice – parotitis epidemica

Původcem nemoci je virus parotitidy z čeledi Paramyxoviridae, který je příbuzný s virem spalniček. Infekce se šíří kapénkovým přenosem. Po primárním pomnožení viru na sliznici nosohltanu a v krčních lymfatických uzlinách se virus šíří krví k dalším tkáním. Virus vykazuje vysokou afinitu ke slinným žlázám, žlázám s vnitřní sekrecí a k meningám.

Inkubační doba činí 2-3 týdny. Ve 30-40% případů se infekce vůbec nemusí projevit. Naproti tomu při symptomatickém průběhu dochází k vzestupu teploty a těstovitému zduření příušních a podčelistních slinných žláz. Zduření asi po týdnu ustupuje. Komplikacemi jsou orchitida, meningitida a pankreatitida.

Základní sérologické vyšetření zahrnuje stanovení IgG a IgM protilátek proti viru příušnic metodou ELISA nebo NIF. Jako doplňující metodu lze použít KFR na stanovení celkových protilátek. Pro přímý průkaz je používána elektronová mikroskopie a izolace na tkáňových kulturách.

2.9.8 Spalničky - morbilli

Jejich původcem je RNA virus z čeledi Paramyxoviridae (rod Morbillivirus). Virus spalniček se vyskytuje pouze v jediném antigenním typu, a proto je možná účinná imunizace. Infekce se šíří kapénkovým přenosem. K primárnímu pomnožení viru dochází v respiračním traktu, na spojivkách, v lymfatických tkáních a v tkáních retikuloendotelového systému. V těchto tkáních virus indukuje tvorbu mnohojaderných buněk (Wartim-Finkeldayovy buňky). Během sekundární virémie dochází k průniku viru do dalších orgánů včetně kůže.

Inkubační doba spalniček je 10 dnů. Na rozdíl od zarděnek jsou spalničky vysoce nakažlivé. Onemocnění začíná jako katar horních dýchacích cest. Objeví se horečka, rýma, kašel a zánět spojivek. V dutině ústní se v místech množení viru objevují bělavé skvrnky (Koplikovy-Filatovy skvrny). Po uplynutí 4-5 dnů se na kůži objeví charakteristická vyrážka. Začíná za ušima a postupně se šíří na obličej, krk, trup, ruce i nohy. Vyrážka může být provázena hemoragickými projevy na kůži. Od šestého dne dochází u nekomplikovaných spalniček k ústupu příznaků, které nicméně doznívají ještě asi týden.

Virus spalniček se replikuje v T i B lymfocytech a makrofázích a tím způsobuje lymfopenii. Mezi komplikace onemocnění způsobené samotným spalničkovým virem patří primární spalničková pneumonie, laryngitida a encefalitida.

Virus spalniček se chová výrazně imunopresivně, nejen prostým ničením buněk, v nichž se množí, ale zásahy do regulace imunitních dějů na více úrovních. Např. útlumem T-lymfocytární odpovědi mizí kožní přecitlivělost (tuberkulinový test) atd. I vakcína proti spalničkách je považována za největší zásah do vývoje imunitního systému jedince (Krejsek 2006, ústní sdělení).

Sérologicky vyšetřujeme protilátky typu IgG a IgM metodou ELISA nebo NIF. Celkové IgG se stanovují komplement fixační reakcí. Elektronovou mikroskopií nebo kultivací na tkáňových kulturách provádíme přímý průkaz viru.

2.9.9 TT virus

Tento virus byl poprvé izolován v roce 1997. Jedná se o neobalený jednovláknový DNA virus, který je začleněn do čeledi Circoviridae. Genom TTV je velice heterogenní, zatím bylo rozlišeno 16 genotypů a řada subtypů.

Virus je přenášen parenterální a fekálně-orální cestou. Dále je možné se nakazit nedostatečně tepelně upravenými potravinami, protože TTV byl prokázán i u domácích zvířat. U kojenců je možná nákaza mateřským mlékem, ve kterém se virus vyskytuje.

Infekce TTV často provází VHC, ale neovlivňuje průběh infekce hepatitidy C ani její samotnou léčbu. Samotný TT virus však na léčbu INF α nereaguje.

Podle současného stupně vývoje vědeckých poznatků je pravděpodobné, že TTV je ubikvitně se vyskytujícím symbiontem člověka bez prokázané patogenity (Husa, 2005).

2.9.10 Sen virus

Jedná se o jednovláknový cirkulární neobalený DNA virus, který byl objeven v roce 1999. Byl zařazen stejně jako TTV do čeledi Circoviridae. Prozatím bylo identifikováno osm genotypů A – H.

Cesty přenosu nejsou zatím zcela jasné, ale v důsledku výskytu infekce u narkomanů a příjemců transfúzí se předpokládá parenterální přenos. Infekce tímto virem probíhá dynamicky. Střídají se stavy eliminace viru a reinfekce. Avšak zda virus způsobuje hepatitidu nebylo jednoznačně prokázáno.

3 Závěr

Jak již bylo uvedeno v úvodu, smyslem této práce bylo shrnutí základních informací o způsobitelných infekčních zánětů jater a jejich diagnostice.

Sérologická diagnostika zaujímá významnou pozici v diagnostice těchto onemocnění a spolu s klinickým a biochemickým vyšetřením umožňuje určit přesnou diagnózu.

V posledních letech došlo k velkému rozvoji nových imunoanalytických postupů, ale i přístrojů, na kterých se stanovení provádí. Nejpoužívanější metodou je enzymoimunoanalýza, která poskytuje mimořádně přesné a reprodukovatelné výsledky. Její výhodou je také automatizace metody a s ní související rychlost a uživatelský komfort.

Seznam zkratk

Ab	protilátka (Antipody)
Ag	antigen
ALP	alkalická fosfatáza
ALT	alaninaminotransferáza
anti-HAV IgG	specifické protilátky IgG proti viru hepatitidy A
anti-HAV IgM	specifické protilátky IgM proti viru hepatitidy A
anti-HBc IgM	specifické protilátky igM proti dřeňovému antigenu HBV
anti-Hbe	specifické protilátky proti antigenu „e“ HBV
anti-HBs	protilátky proti povrchovému antigenu HBV
anti-HCV	protilátky proti viru hepatitidy C
anti-HD IgG	specifické protilátky IgG proti delta agens
anti-HD IgM	specifické protilátky IgM proti delta agens
anti-HEV	protilátky proti viru hepatitidy E
AST	aspartátaminotransferáza
AV	adenovirus
CMV	cytomegalovirus
EA	časný antigen (early antigen)
EBNA	nukleární antigen viru Epstein – Baar (EB nuclear antigen)
EIA	enzymoimunoanalýza
ELISA	Enzyme – Linked Imunosorbent Assay
GMT	γ - glutamyltransferáza
HAV	virus hepatitidy A
HBcAg	dřeňový antigen viru hepatitidy B
HBeAg	antigen „e“ viru hepatitidy B
HBsAg	povrchový antigen viru hepatitidy B
HBV	virus hepatitidy B
HBV DNA	nukleová kyselina viru hepatitidy B
HCV	virus hepatitidy C
HCV RNA	nukleová kyselina viru hepatitidy C
HDAg	antigen delta agens
HDV	delta agens, virus hepatitidy D
HEV	virus hepatitidy E

HGV	virus hepatitidy G
HHV	lidský herpesvirus 6
IgG	imunoglobuliny G
IgM	imunoglobuliny M
INF α	interferon α
KFR	komplement fixační reakce
NIF	nepřímá imunofluorescence
ORF	otevřený čtecí rámec (open reading frame)
PCR	polymerázová řetězová reakce (polymerase chain reaction)
TTV	TT virus
VCA	virový kapsidový antigen
VHA	virová hepatitida A
VHB	virová hepatitida B
VHC	virová hepatitida C
VHD	virová hepatitida D

Použitá literatura

1. Krekulová, L., Řehák, V., Virové hepatitidy – Prevence, diagnostika a léčba. Triton, 2002, str. 55 - 125
2. Husa, P., Virové hepatitidy. Galén, 2005, str. 23 - 74
3. Roubalová, K. a kol., Doporučené metody ve virologické diagnostice, Acta hygienica, epidemiologica et microbiologica. č. 1, SZÚ, 2000, str. 3 - 5, 7 -12, 16 - 24, 45 - 46, 51 - 52, 56
4. Acta hygienica, epidemiologica et microbiologica, Institut hygieny a epidemiologie v Praze, 1984, příloha č. 5, str. 45 - 47
5. Brodanová, M., Kordač, V., Klinická hepatologie. Avicenum, 1993
6. Mančal, P., Enzymová imunoanalýza. Ústav sér a očkovacích látek o. p., 1983, str. 11 - 17
7. Greenwood, Flack, Peutherer, Lékařská mikrobiologie. Grada, 1999, str. 363 – 367, 421 – 429
8. Roubalová. K., Lidský herpes virus 6
9. Instruction for use, DiaSorin, CD – ROM
10. Diarlex MB, Manuál soupravy k detekci adenoviru a rotaviru ve vzorcích stolice, str.1
11. Lukš, D., EIA EBV EBNA-1 IgG, Manuál soupravy k detekci lidských protilátek proti EBNA EBV, TEST – LINE s. r. o., Clinical diagnostics, 2002, str. 1
12. Lukš, D., EIA Cytomegalo IgM, Manuál soupravy k detekci lidských protilátek proti CMV, TEST – LINE s. r. o., Clinical diagnostics, 2002, str. 1
13. Lukš, D., EIA EBV VCA IgG, Manuál soupravy k detekci lidských protilátek proti VCA EBV, TEST – LINE s. r. o., Clinical diagnostics, 2002, str. 1
14. www.pharmanews.cz/2005-05/exantem.htm
15. www.virology.net
16. www.molbiotech.chalmers.se
17. www.ceska-hepatologie.cz
18. www.hepnet.com