

**Univerzita Karlova**  
**Farmaceutická fakulta**  
Katedra biologických a lékařských věd

**Laboratorní diagnostika infekčních zánětů jater**  
(diplomová práce)

Hradec Králové, 2008

Ivana Šířová

Za rady teoretické i praktické děkuji MVDr. V. Fejtovi (oddělení mikrobiologie a imunologie Nemocnice Havlíčkův Brod) a MUDr. J. Kubátovi (infekční oddělení Nemocnice Havlíčkův Brod).

Prohlašuji, že tato práce je mým původním autorským dílem, které jsem vypracovala samostatně. Veškerá literatura a další zdroje, z nichž jsem při zpracování čerpala, jsou uvedeny v seznamu použité literatury a v práci řádně citovány.

V Hradci Králové dne 30.dubna 2008

## **Abstrakt**

Šífová, I. Laboratorní diagnostika infekčních zánětů jater. Diplomová práce. Hradec Králové, 2008

Práce se zabývá problematikou infekčních zánětů jater, a to hlavně virovými hepatitidami, které jsou velkým zdravotnickým problémem. Popisuje hlavní infekční agens způsobující tato onemocnění a jejich laboratorní diagnostiku.

## **Abstract**

Šífová, I. Laboratory diagnostics of inflammatory diseases of the liver. Diploma thesis. Hradec Králové, 2008

This text is oriented to infectious inflammations of liver, especially to viral hepatitis. Theses are aimed to infectious agents causing viral hepatitis and their laboratory diagnostic.

# Obsah

<b>Abstrakt.....</b>	<b>4</b>
<b>Úvod.....</b>	<b>7</b>
<b>Teoretická část.....</b>	<b>8</b>
<b>1</b> <i>Virus hepatitidy A.....</i>	<i>8</i>
1.1    Popis viru.....	8
1.2    Klinický průběh VHA.....	8
1.3    Léčba.....	10
1.4    Laboratorní diagnostika.....	11
<b>2</b> <i>Virus hepatitidy B.....</i>	<i>12</i>
2.1    Popis viru.....	12
2.2    Klinický průběh VHB.....	13
2.2.1    Rizikové faktory přenosu HBV infekce.....	13
2.2.2    Akutní virová hepatitida B.....	13
2.2.3    Chronická virová hepatitida B.....	15
2.3    Léčba.....	16
2.4    Laboratorní diagnostika.....	17
<b>3</b> <i>Virus hepatitidy C.....</i>	<i>18</i>
3.1    Popis viru.....	18
3.2    Klinický průběh VHC.....	20
3.2.1    Rizikové faktory přenosu HCV infekce.....	20
3.2.2    Akutní virová hepatitida C.....	20
3.2.3    Chronická virová hepatitida C.....	21
3.3    Léčba.....	22
3.4    Laboratorní diagnostika.....	23
<b>4</b> <i>Virus hepatitidy D.....</i>	<i>25</i>
4.1    Popis viru.....	25
4.2    Klinický průběh.....	25
4.3    Léčba.....	27
4.4    Laboratorní diagnostika.....	28
<b>5</b> <i>Virus hepatitidy E.....</i>	<i>28</i>
5.1    Popis viru.....	28
5.2    Klinický průběh.....	28

5.3	Léčba.....	29
5.4	Laboratorní diagnostika.....	29
6	<i>Virus hepatitidy F</i> .....	29
7	<i>Virus hepatitidy G</i> .....	30
8	<i>Další agens se vztahem k hepatálním lézím</i> .....	30
8.1	Epstein – Baar virus.....	30
8.2	Cytomegalovirus.....	32
8.3	TT virus – transfusion transmitted virus.....	33
8.4	SEN virus.....	33
8.5	Ostatní.....	33
<b>Praktická část.....</b>		<b>35</b>
9	<i>Laboratorní diagnostika hepatitid</i> .....	35
9.1	Laboratorní metody – obecné principy.....	35
9.2	Sérologické metody používané na oddělení mikrobiologie a imunologie v nemocnici Havlíčkův Brod.....	36
9.2.1	Průkaz antiHAV-IgM.....	36
9.2.2	Průkaz HBsAg.....	37
9.2.3	Konfirmační test HBsAg.....	37
9.2.4	Průkaz HBe a antiHBe.....	38
9.2.5	Průkaz anti - HCV.....	38
9.3	Vyšetření při podezření na hepatitidu.....	40
9.4	Pacienti s hepatitidou hlášení v r. 2007 a jejich laboratorní vyšetření.....	45
10	<i>Porovnání hlášených případů ve spádové oblasti Havlíčkův Brod s hlášenými případy v celé ČR od r. 1999–2007</i> .....	53
<b>Diskuze.....</b>		<b>55</b>
<b>Závěr.....</b>		<b>56</b>
<b>Seznam zkratk.....</b>		<b>57</b>
<b>Seznam použité literatury.....</b>		<b>59</b>

## Úvod

Mezi infekční záněty jater řadíme virové hepatitidy a hepatitidy způsobené bakteriálními agens. Nejvýznamnější virová agens, způsobující poškození jaterního parenchymu, jsou – viry hepatitid A, B, C, méně D a E, virus Epstein-Baarové, cytomegalovirus. U imunosuprimovaných pacientů se uplatňují také Herpes simplex virus a Varicella – zoster virus. Z bakteriálních agens to jsou leptospirové infekce a onemocnění syfilis způsobené *Treponema pallidum*, u kterého se vyskytuje tzv. „hepatitis – like syndrom“.

Játra jsou významným centrem intermediárního metabolismu, proto jejich poškození vede k narušení a ohrožení organismu jako celku. Poškození jaterního parenchymu se projevuje hepatomegalií, ikterem a jinými příznaky.

Pro diagnostiku těchto onemocnění jsou důležitá laboratorní vyšetření. Základem jsou stanovení biochemických markerů poškození jaterního parenchymu a sérologicko-imunologická vyšetření prokazující přítomnost virového agens nebo protilátek. Sérologická vyšetření se využívají též ke zjištění stádia onemocnění a ke sledování odpovědi pacienta na terapii. V posledních letech došlo také k rozvoji využití genetiky pro průkaz nukleových kyselin virů.

V práci rozebereme nejdůležitější virová a bakteriální agens zapříčiňující tato onemocnění, jejich laboratorní diagnostiku a nové poznatky v tomto oboru. Dále zpracujeme data z archivu Havlíčkobrodské nemocnice se vztahem k hepatitidám, z čehož získáme statistické zhodnocení významu laboratorních hodnot v diagnostice hepatitid.

## Teoretická část

### 1 Virus hepatitidy A

Hepatitida A (VHA) byla objevena v r. 1973 Stephnem M. Feistonem. Toto onemocnění provází lidstvo po staletí, nyní je rozšířeno po celém světě. V ČR se výskyt této choroby neustále snižuje. V roce 1997 bylo hlášeno 1195 případů VHA, v roce 2006 132 případů (Epidat). Ročně je celosvětově hlášeno asi 1,5 mil. klinicky manifestních hepatitid.

#### 1.1 Popis viru

Virus hepatitidy A (HAV) je řazen do rodu *Hepatitisvirus*, čeleď *Picornaviridae*. Jedná se o RNA virus o velikosti 27-33 nm. Genom se skládá ze tří oblastí – 5´ koncová nekódující oblast, kódující oblast a 3´ koncová nekódující oblast. 5´ koncová oblast je nejkonzervativnější a obsahuje strukturu k navázání virové RNA na ribozomy hostitele. Kódující oblast má pouze jeden čtecí rámeček, produkuje 4 strukturální (VP1 – VP4) a 7 nestrukturálních proteinů (2A, 2B, 2C, 3A, 3B, 3C, 3D). Genotypy byly rozeznány 4, všechny patří k jednomu sérotypu.

Virus se primárně množí v buňkách střevních krypt a v epitelích žaludku a tlustého střeva. Díky portálnímu oběhu je přenesen do jater a zde se dále množí v hepatocytech. Hepatocyty destruuje přímo bez zprostředkovaných imunitních reakcí organismu.

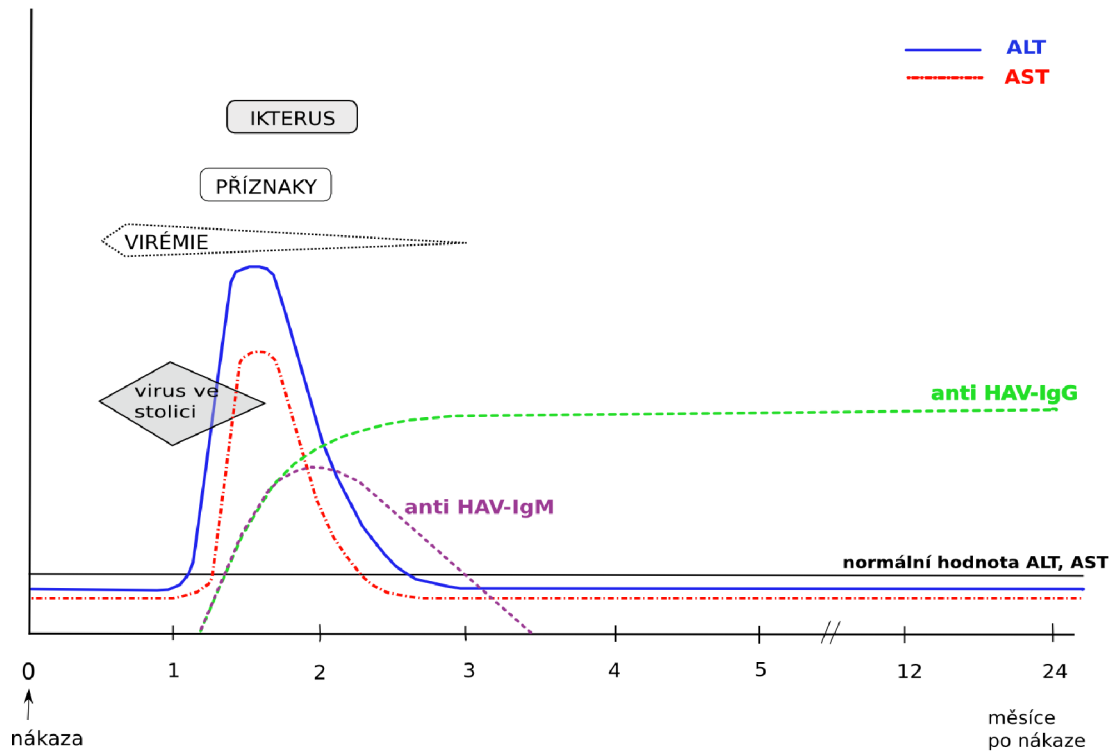
#### 1.2 Klinický průběh VHA

K přenosu infekce dochází fekálně-orální cestou, proto je také VHA označována jako „nemoc špinavých rukou“. Člověk je jediným rezervoárem infekce, virus vylučuje stolicí. Je možný i parenterální přenos v období virémie (1 – 2 měsíce po nákaze). Inkubační doba je 15 – 50 dnů.



Průběh akutní hepatitidy závisí na věku infikovaného. U dětí má průběh lehčí, většinou ve formě průjmů, bolestí břicha, teplot a bez ikteru. U dospělých se po inkubační době objevují prodromální příznaky: únava, gastrointestinální obtíže, zvýšená teplota. Postupem času se příznaky stupňují, přidává se acholická stolice, tmavá moč, ikterus. Onemocnění trvá 2 - 4 týdny. Úplné zotavení nastává nejdéle do 6 měsíců. Během rekonvalescence může dojít k relapsu onemocnění. I přes tyto komplikace hepatitida A nepřechází do chronicity. Riziko je u pacientů s chronickou virovou hepatitidou C, kde infekce hepatitidy A může vést k fulminantnímu zvratu. U starších nemocných, nebo u nemocných s poškozenými játry se vzácně vyskytuje cholestatická forma, kdy hodnoty jaterních testů mohou být zvýšeny až 12 měsíců. K poškození hepatocytů vede aktivace specifických CD8+ T lymfocytů a NK buněk. Mediátorem imunitních reakcí hostitele proti viru je interferon  $\gamma$ .

Akutní hepatitida je charakteristická zvýšenými hodnotami alaninaminotransferázy (ALT) a aspartátaminotransferázy (AST) asi 10x nad horní hranici s převahou ALT. U ikterických forem stoupá bilirubin. Dále se objevují IgM protilátky proti HAV (antiHAV-IgM), které s postupem onemocnění mizí. Zároveň přibývají IgG protilátky (antiHAV-IgG) (viz obr.č.1), které jsou zodpovědné za dlouhodobou imunitu po prodělaném onemocnění.



Obrázek 1: Průběh virové hepatitidy A

### 1.3 Léčba

Léčba je založena pouze na dietních a režimových opatřeních. Samozřejmá je abstinence alkoholu. Pacienti jsou sledováni ambulantně do doby normalizace jaterních testů. Je doporučována minimálně 6-ti měsíční dispenzární péče. V rámci profylaxe je také důležité dodržování hygienických zásad – jako např. dostatečná tepelná úprava masa, používání značkové balené vody.

V současné době je k dispozici aktivní i pasivní imunizace proti VHA. Aktivní imunizace se provádí živou atenuovanou vakcínou. Pasivní imunizace se provádí u osob, u kterých je riziko nákazy, ale již není možná aktivní imunizace.

## 1.4 Laboratorní diagnostika

Diagnostika HAV spočívá hlavně na sérologickém vyšetření, ale důležitá jsou také data z anamnézy a výsledky biochemického vyšetření. V biochemickém nálezu nacházíme zvýšení hodnot aminotransferáz až na 30-50 násobek horní hranice.

Základní metodou pro vyšetření antiHAV-IgM a IgG je metoda ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay). Test je vysoce citlivý a specifický. Přímý průkaz viru molekulárně genetickými metodami se neprovádí.

<b>Diagnóza</b>	<b>antiHAV-IgM</b>	<b>antiHAV-IgG</b>	<b>antiHAV total</b>
- akutní VHA	+	-	+
- stav po nedávno proběhlé VHA	+	+	+
- stav po VHA	-	+	+
- stav po očkování	-	+	+
- neimunní stav	-	-	-

*Tabulka 1: Sérologické nálezy u VHA*

## 2 Virus hepatitidy B

Virová hepatitida B (VHB) je velmi závažným zdravotnickým problémem převážně v rozvojových zemích. Je pravděpodobně nejzávažnějším typem virové hepatitidy, jelikož může přecházet do chronického stádia nebo může být zkomplikována fulminantním zvratem. Počet nemocných na celém světě se odhaduje na 350 – 400mil. osob.

### 2.1 Popis viru

Virus patří do čeledi *Hepadnaviridae*, rod *Orthohepadnavirus*, jeho průměr je 42 nm. Genom tvoří částečně dvouřetězcová molekula DNA o délce 3200 nukleotidů. Genom je tvořen čtyřmi otevřenými čtecími rámci (ORF – open reading frame), které kódují geny S, C, P a X.

Tzv. „**S ORF**“ je složen z oblastí *pre-S1*, *pre-S2* a *S* - kóduje povrchový antigen **HBsAg** (Hepatitis B surface antigen). **C ORF** s oblastmi *pre-core* a *core* kóduje **HBcAg** (Hepatitis B core antigen) a **HBeAg** (Hepatitis B early antigen). Bílkovina s funkcí reverzní transkriptázy a DNA polymerázy je kódována v **oblasti P**. V poslední **oblasti X** je kódován **HBxAg** – bílkovina aktivující transkripci virových i buněčných genů. Protein X také přispívá k apoptóze a vzniku a selekci neoplastických hepatocytů (Horák, 1999).

Ačkoliv genom viru hepatitidy B (HBV) je relativně stabilní, dochází často k mutacím. Nejvýznamnější mutanty HBV jsou – **precore** mutanta (záměna v precore oblasti guaninu za adenin). Výsledkem je, že nedochází k syntéze HBeAg, pacienti jsou rezistentní k léčbě a choroba rychleji progreduje do cirhózy. **Escape** mutanta (substituce glycinu za arginin na podjednotce HBsAg), vede ke ztrátě neutralizační aktivity protilátek proti HBsAg (antiHBs).

Dodnes bylo rozlišeno 8 genotypů HBV označovaných A - H. Genotypy se liší jak v biologických vlastnostech, tak v celosvětovém výskytu. Například genotyp A je častější v severozápadní Evropě, kdežto genotypy B a C jsou častější v Asii. Genotypy také ovlivňují průběh onemocnění a odpověď na antivirovou terapii.

## 2.2 Klinický průběh VHB

### 2.2.1 Rizikové faktory přenosu HBV infekce

Nejvýznamnější cestou přenosu infekce je **pohlavní styk**, ať heterosexuální nebo homosexuální – 51%. Je to však jedna z mála sexuálně přenosných chorob, která je preventabilní očkovaním. Další způsoby přenosu jsou **parenterální**, např. při nitrožilní aplikaci drog, a **vertikální** přenos z matky na dítě. Dříve bylo riziko nákazy u krvavých výkonů, transfúzí a dialýz, ale dnes je to hlavně problém třetího světa.

Zdrojem infekce je člověk. Virus se vyskytuje v krvi a tělních sekretech a je vylučován již v inkubační době.

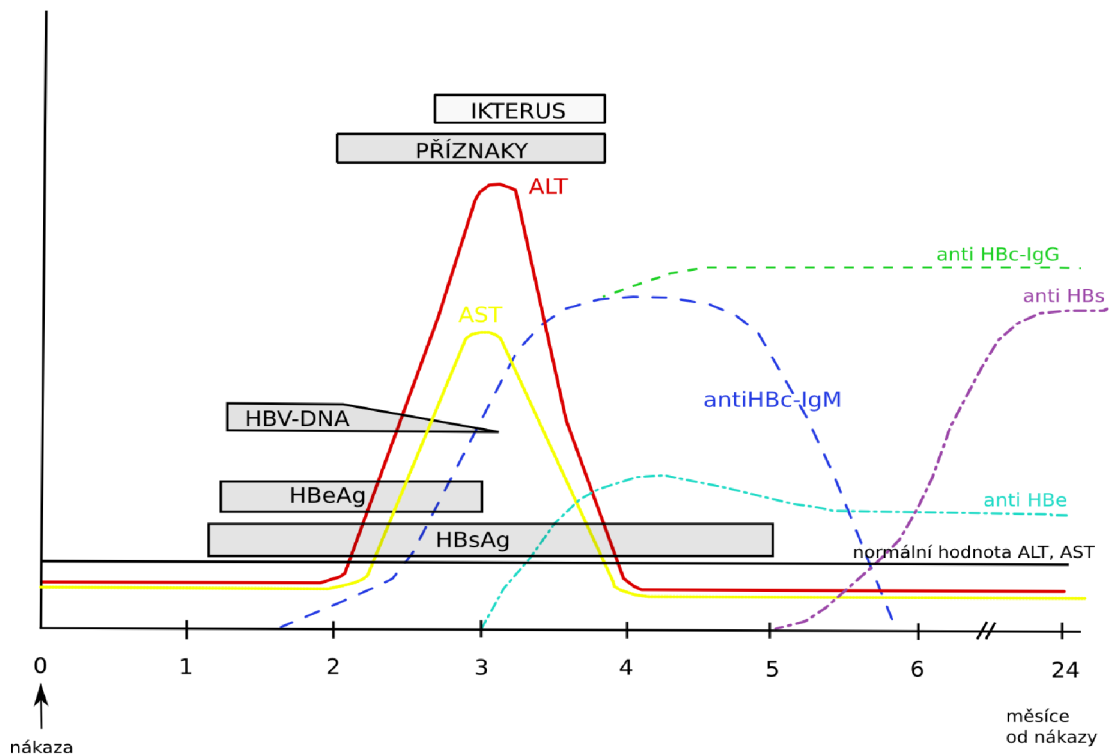
### 2.2.2 Akutní virová hepatitida B

Inkubační doba VHB je 60 – 90 dní. Probíhá buď symptomatickou nebo asymptomatickou formou. U **symptomatické** formy je sice těžší průběh, ale obvykle dochází k uzdravě. Hlavní symptomy infekce jsou: únava, vomitus, nauzea, teploty. Cirkulující imunokomplexy vyvolávají artralgie, exantémy, angioedém. S postupujícím onemocněním se symptomy stupňují a přidávají se ikterické potíže – ikterus, acholická stolice, tmavá moč, pruritus kůže. Jaterní zánět a ikterus je přímo úměrný k imunitní odpovědi organismu. V důsledku jaterního zánětu dochází k elevaci hodnot jaterních testů. Akutní fáze trvá zpravidla 4 - 6 týdnů. Po prodělaném onemocnění zůstává dlouhodobá imunita.

**Asymptomatická** forma je charakteristická nespecifickými příznaky – únava, nechůť k jídlu, váhový úbytek. Fyzikální nález je také chudý. V důsledku neadekvátní imunitní odpovědi organismu je u této formy častý přechod do chronicity (asi u 10% případů, při vertikálním přenosu je to až 90%).

Komplikací akutní VHB je intrahepatální cholestáza a fulminantní průběh s jaterním selháním. Fulminantní průběh se rozvíjí v důsledku intenzivní imunitní reakce organismu, což vede k jaternímu selhání.

Virová DNA (HBV DNA) a HBsAg jsou detekovatelné v séru nemocných již 2-7 týdnů před rozvojem symptomů (Krekulová, 2002). Osoby s pozitivním HBeAg jsou považováni za vysoce infekční. Aminotransferázy stoupají, převažuje ALT. Průběh akutní VHB je zobrazen na obr.č.2.



Obrázek 2: Průběh akutní virové hepatitidy B

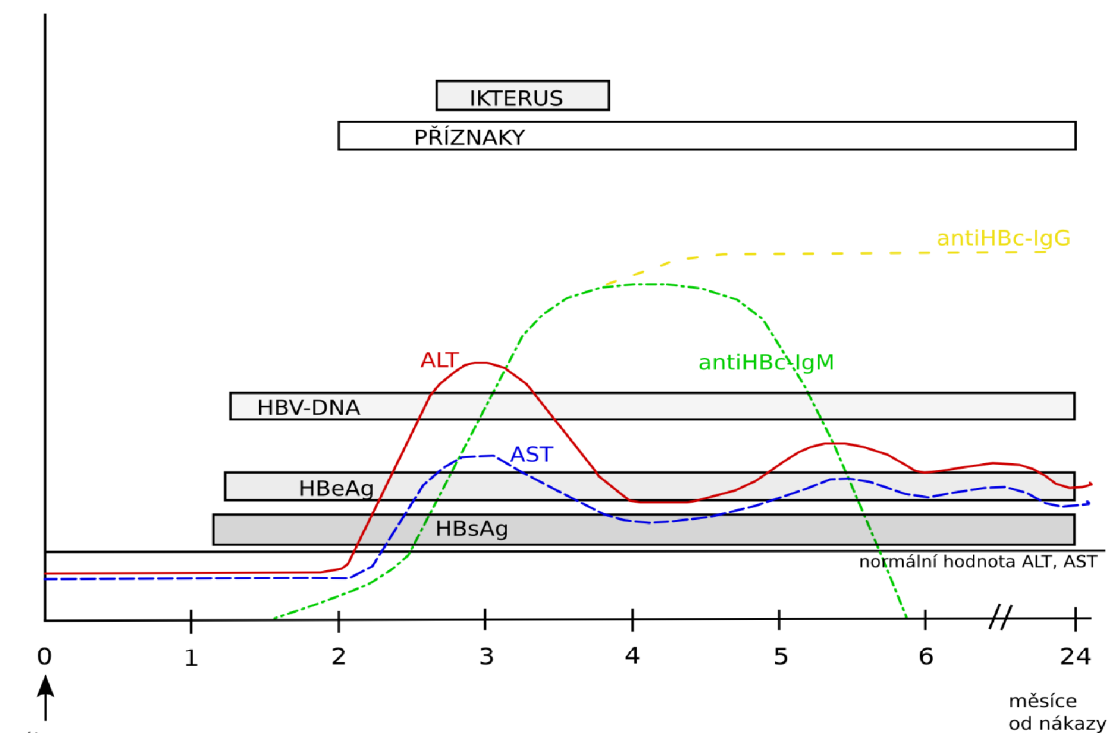
### 2.2.3 Chronická virová hepatitida B

Pokud pozitivita HBsAg přetrvává déle jak 6 měsíců lze mluvit o chronické hepatitidě B. Do chronického stadia přejde méně než 5 % akutních hepatitid B u dospělých imunokompetentních pacientů. Imunokompromitovaní pacienti (pacienti v chronickém hemodialyzačním programu, pacienti podstupující protinádorovou či imunosupresivní léčbu, koinfikovaní virem lidského imunodeficitu – HIV) mají sníženou schopnost rozeznat a/nebo eliminovat infekci HBV, a proto u nich přechází infekce HBV do chronicity ve více než 50 %. Pravděpodobnost chronicity u novorozenců infikovaných HBV vertikálně od matky je vyšší než 90%, při infikování dětí mladších 5 let je pravděpodobnost vzniku chronické infekce HBV 25-50 % (Husa et al., 2007).

Dle aktivity replikace HBV se pacienti dělí do 2 skupin. *Asymptomatictí nosiči* jsou HBsAg a antiHBe pozitivní, ale mají negativní markery virové replikace (HBeAg, HBV DNA). Histologický nález je také nevýznamný. Druhou skupinou jsou *pacienti s chronickou hepatitidou*, kteří mají pozitivní HBsAg, časné protilátky proti HBcAg (antiHBc-IgM), markery virové replikace a aktivní zánětlivý proces jater. Ten může vést k rozvoji fibrózy až cirhózy jater během 10-15 let. Tito pacienti jsou trvalým zdrojem infekce.

U nemocných s chronickou VHB byla také prokázána souvislost mezi kancerogenezí a VHB. Hepatocelulární karcinom (primární rakovina jater) se u pacientů s hepatitidou B vyskytuje podstatně častěji než u pacientů neinfikovaných. Je jedinou jaterní malignitou, jejíž výskyt lze ovlivnit vakcinací.

Zvláštní jednotkou je okultní infekce HBV. U pacientů s tímto typem došlo k úplné sérokonverzi a normalizaci jaterních testů, ale virová replikace dále probíhá na velmi nízké úrovni. O tom, zda tento proces má vliv na poškození jaterního parenchymu, se stále diskutuje.



Obrázek 3: Průběh chronické virové hepatitidy B

## 2.3 Léčba

Terapie akutní hepatitidy B spočívá ve stejných opatřeních jako u terapie akutní VHA. U chronické hepatitidy jsou nejpoužívanějšími preparáty **interferon  $\alpha$**  (INF  $\alpha$ ) a **lamivudin**. U interferonu se využívá protivirových a imunomodulačních účinků, které vedou k potlačení virové replikace. Léčba interferonem přináší řadu nežádoucích účinků – flu-like syndrom, neutropenii, trombocytopenii, deprese. Virostatikum lamivudin způsobuje útlum syntézy virové DNA a to vede ke snížení hladin HBV DNA v séru. Nežádoucí účinky lamivudinu nejsou známy. Léčba trvá 4-6 měsíců. Protivirová léčba chronické virové hepatitidy B vede k dlouhodobé remisi u 30 - 50% nemocných (Plíšek, 2002).



Pro vakcinaci se používají rekombinantní vakcíny. Pasivní imunizace je indikována např. u novorozenců HBsAg pozitivních matek nebo při poranění kontaminovaným nástrojem. Aktivní imunizace se provádí u novorozenců a dvanáctiletých školáků. Očkování jsou také rizikové skupiny – zdravotníci, pacienti léčení hemodialýzou.

## 2.4 Laboratorní diagnostika

Základem pro diagnostiku infekce HBV jsou opět sérologické metody. Díky těmto metodám je možné rozlišit zda se jedná o akutní či chronickou hepatitidu a dovolují sledovat odpověď na terapii. Základem je průkaz HBsAg metodou ELISA. U této metody mohou interferovat nespecifické protilátky nebo jiné artefakty, proto se používá konfirmační test u reaktivních vzorků, který omezuje riziko falešně pozitivního výsledku. Sérologické nálezy u jednotlivých typů VHB jsou shrnuty v tabulce č.2.

Diagnóza	HBsAg	HBeAg	antiHBc-IgM	antiHBc-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 po vakcinaci	-	-	-	-	-	+	-

Tabulka 2: Sérologické nálezy u VHB

K průkazu virové DNA se provádí metodou PCR (polymerase chain reaction) nebo hybridizací se značenou sondou. V současnosti se většinou používá vysoce senzitivní PCR v reálném čase (Husa et al., 2007). Tento přímý průkaz je využíván pro indikaci chronické VHB k léčbě INF  $\alpha$ , k monitorování léčby a ke kontrole úspěšnosti léčby po jejím skončení.

### 3 Virus hepatitidy C

Tento virus byl identifikován v r. 1989 a jeho objev způsobil revoluci v hepatologii. Je zřejmé, že virová hepatitida C (VHC) je jednou z hlavních příčin chronických jaterních onemocnění. Zároveň je zde podstatný problém týkající se léčby onemocnění a vakcinace.

V současné době je virem hepatitidy C na celém světě infikováno přibližně 170-200 milionů osob.

#### 3.1 Popis viru

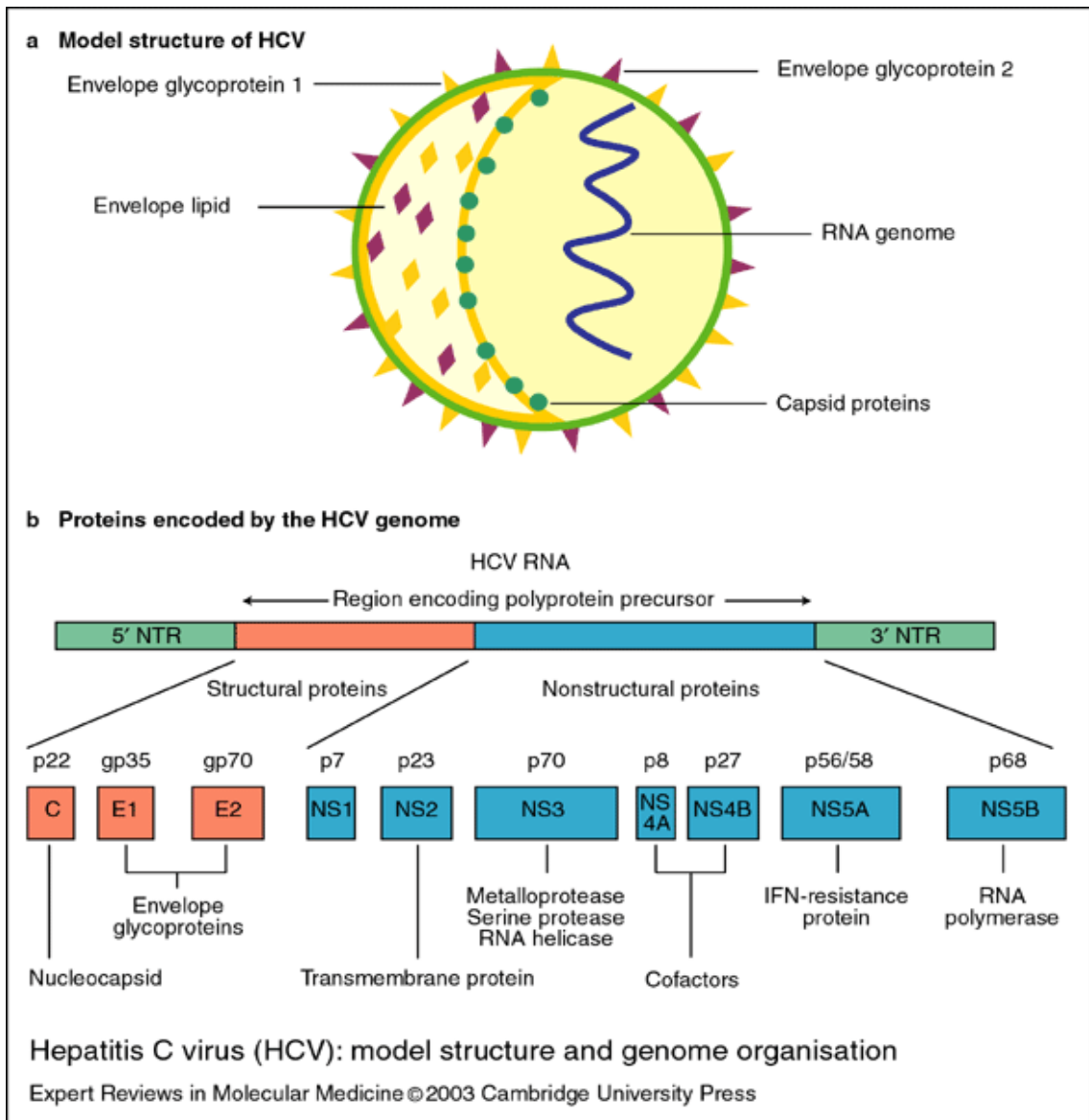
Virus hepatitidy C (HCV) je velký 55-65 nm, je zařazen do čeledi *Flaviviridae* jako jediný člen rodu *Hepacivirus*. Jeho genom je složen z jednovláknové RNA, na které můžeme rozlišit oblasti kódující strukturální a nestrukturální proteiny.

**Strukturální oblast** - produkuje **core protein** a dva **obalové glykoproteiny**. První produkt zajišťuje ochranu nukleové kyseliny (NK) viru. Glykoproteiny zprostředkovávají vazbu na membránu lidské buňky a splynutí s ní

**Nestrukturální oblast** - produkty této části genomu jsou proteiny značené jako **NS2, NS3, NS4A, NS4B, NS5A, NS5B**. Účastní se virové replikace, mají funkci enzymů.

Nekódující oblasti se nacházejí na 5' i 3' konci genomu. Oblast na 5' konci virové RNA je vysoce konzervativní, což je často využíváno v PCR k detekci HCV. Uplatňuje se při vazbě na ribosomy a při vlastní replikaci viru. Na obr.č.4 je názorné schéma viru a všech proteinů, které jsou kódovány jeho genomem.

Virus hepatitidy C je charakteristický svojí extrémní heterogenitou, která se manifestuje velkým množstvím genotypů, subtypů a kvazidruhů. V současné době rozlišujeme cca 6 genotypů a přes 50 subtypů. V Evropě jednoznačně dominuje genotyp HCV 1 (Urbánek,2004). Sérotypy rozlišujeme 3 – 1, 2, 3.



Obrázek 4: Schéma viru hepatitidy C a jeho genomu

## 3.2 Klinický průběh VHC

### 3.2.1 Rizikové faktory přenosu HCV infekce

**Potransfúzní hepatitida C** - podání krevních derivátů představovalo největší riziko přenosu infekce do počátku 90. let, kdy byl zaveden screening dárců na protilátky proti HCV (antiHCV). Díky screeningu dárců a kontrole krevních derivátů jsou tyto případy nákazy vzácné.

**Iatrogenní přenos** – přenos HCV při chirurgických výkonech, invazivních vyšetřovacích metodách, hemodialýze, transplantaci orgánů.

**Intravenózní toxikomanie** – mezi dlouhodobě závislými intravenózními toxikomany je prevalence antiHCV positivity až 85% (Urbánek, 2004).

**Sexuální aktivita** – přenos pohlavním stykem je možný, ale méně častý než u jiných infekcí (HIV, HBV).

**Vertikální přenos** – přenos z matky na dítě. Pokud je matka viremická je riziko přenosu kolem 5%, ovšem koinfekce HCV/HIV toto riziko zvyšuje až na 15-20%.

### 3.2.2 Akutní virová hepatitida C

Inkubační doba je 15 až 160 dní. Akutní fáze onemocnění se vyznačuje u většiny pacientů asymptomatickým průběhem popř. nespecifickými klinickými příznaky – nevolnost, zvracení, únava. K rozvoji ikteru dochází méně než u 20% symptomatických jedinců (Krekulová, 2002).

K poškození jaterního parenchymu dochází působením specifických cytotoxických CD8+ T lymfocytů a NK buněk, které reagují na přítomnost viru v hepatocytech.

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.

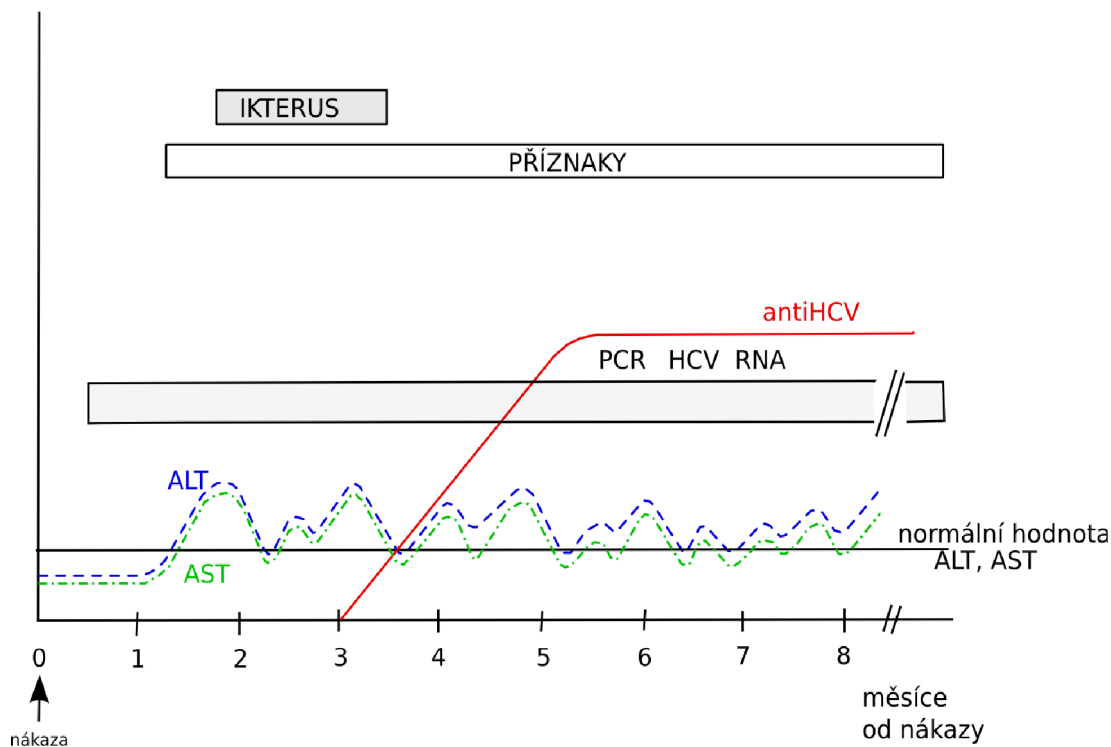
Laboratorní obraz akutní infekce je charakterizován průkazem HCV RNA při současné negativitě antiHCV a vysokými hodnotami ALT, AST.

### **3.2.3 Chronická virová hepatitida C**

Jako chronickou VHC označujeme infekci, která prokazatelně trvá déle než 6 měsíců. Často se po mnoho let projevuje pouze zvýšenou únavností nebo dyspeptickými obtížemi. Postižení jaterního parenchymu je variabilní – mírné hepatální léze až jaterní cirhóza. Rozvoj uvedených následků trvá 15 – 30 let, u některých jedinců může být mnohem rychlejší. V průběhu chronické hepatitidy C dochází k akutním exacerbacím s roční incidencí asi 12%. (Horák, 1999)

Hladina ALT stoupá asi do dvojnásobku horní hranice normy. U 30% postižených se hladina ALT pohybuje v mezích normy. AST bývá zvýšeno mírně či vůbec. Titr protilátek antiHCV stoupá, dále je prokazatelná HCV RNA. Tíže histologického nálezu koreluje s intenzitou virové replikace.

Ačkoli chronická VHC probíhá asymptomaticky, je s infekcí spojeno široké spektrum extrahepatálních projevů. Nejvýznamnější je kryoglobulinémie a s ní spojený Sjögrenův syndrom, membranoproliferativní glomerulonefritida, non-Hodgkinské lymfomy a vaskulitidy. Specifické vlastnosti a interakce hostitelského organismu a infekce VHC vedoucí k těmto projevům nejsou doposud zcela objasněny.



Obrázek 5: Průběh chronické virové hepatitidy C

### 3.3 Léčba

Základní podmínkou zahájení léčby je průkaz HCV RNA v séru. Cílem léčby je dosažení setrvalé virologické odpovědi (*SVR, sustained virological response* = negativní sérová HCV RNA metodou PCR s detekčním limitem 50 IU/ml 24 týdnů po skončení terapie) až vymizením nekroinflamatorní aktivity histologického procesu (Galský et al., 2008).

V současné době je ve většině případů podáván dlouhodobě **interferon  $\alpha$** . Interferony inhibují syntézu virových nukleových kyselin a proteinů. Dále zvyšují aktivitu cytotoxických T-lymfocytů a NK buněk. Po podání INF  $\alpha$  se objevuje tzv. flu-like syndrom, soubor příznaků podobných chřipce. Nyní je INF  $\alpha$  nahrazován modernějšími **pegylovanými interferony**.

Dalším používaným přípravkem ze skupiny orálních virostatik je **ribavirin**. Jeho mechanismus účinku není zcela objasněn. Při použití v monoterapii snižuje přechodně virémii. Hlavním nežádoucím účinkem ribavirinu je hemolytická anémie, která po ukončení léčby vymizí.

Terapie první volby je současné použití INF  $\alpha$  a ribavirinu. Volba optimálního schématu léčby se odvíjí od genotypu HCV. Léčba trvá 24 – 48 týdnů. Vývoj vakcíny je značně komplikován vysokou mutabilitou virového genomu a neznalostí imunitních procesů, které způsobují eliminaci viru.

### **3.4 Laboratorní diagnostika**

Základem pro průkaz infekce HCV jsou sérologické metody. Umožňují určit přítomnost protilátek antiHCV třídy IgG, popř. přítomnost virových proteinů v séru. Protilátky přetrvávají i po eliminaci virové RNA, ale nezajišťují ochranu proti reinfekci nebo relapsem. Pro diagnózu akutní VHC stanovení antiHCV-IgM není směrodatné, protože antiHCV-IgM může být přítomna jak v období akutní, tak chronické infekce. Jejich důkaz je navíc velmi náročný. Nejpoužívanější sérologické metody jsou ELISA a RIBA (recombinant immunoblot assay) - ta se používá spíše jako konfirmační test pro potvrzení pozitivního výsledku metodou ELISA.

Sérotypizace HCV se provádí metodou RIBA HCV strip immunoblot assay. Strip obsahuje pět různých peptidových sekvencí z NS4 oblasti a dvě peptidové sekvence z jaderné oblasti HCV genomu. Tyto peptidy reagují s protilátkami v séru pacienta.

Zcela nedávno byl na trh uveden systém (Trak-C), detekující v séru tzv. jaderný (core) antigen viru hepatitidy C. Sérový titr HCV core antigenu koreluje velmi dobře s hladinou HCV RNA, jeho hladiny jsou detekovatelné na počátku infekce asi o 1-2 dny později nežli sérová HCV RNA. Cena metodiky je srovnatelná s provedením kvalitativní PCR (Urbánek, 2004).

Pomocí molekulárně genetických metod prokazujeme virovou HCV RNA v séru či tkáních. Z této kategorie je nejdůležitější PCR a její variace. Dnes je k dispozici PCR jak kvantitativní tak kvalitativní. Pro genotypizaci HCV se používá sekvenční analýza.

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

*Tabulka 3: Sérologické nálezy u VHC*



## 4 Virus hepatitidy D

Virová hepatitida D (VHD) je vyvolávána virem hepatitidy D, rovněž označovaným jako „**delta agens**“. Virus byl objeven v roce 1977. Jedná se o inkompletní virovou částici, která je plně funkční pouze v přítomnosti HBV. V České republice je zatím výskyt tohoto onemocnění vzácný.

### 4.1 Popis viru

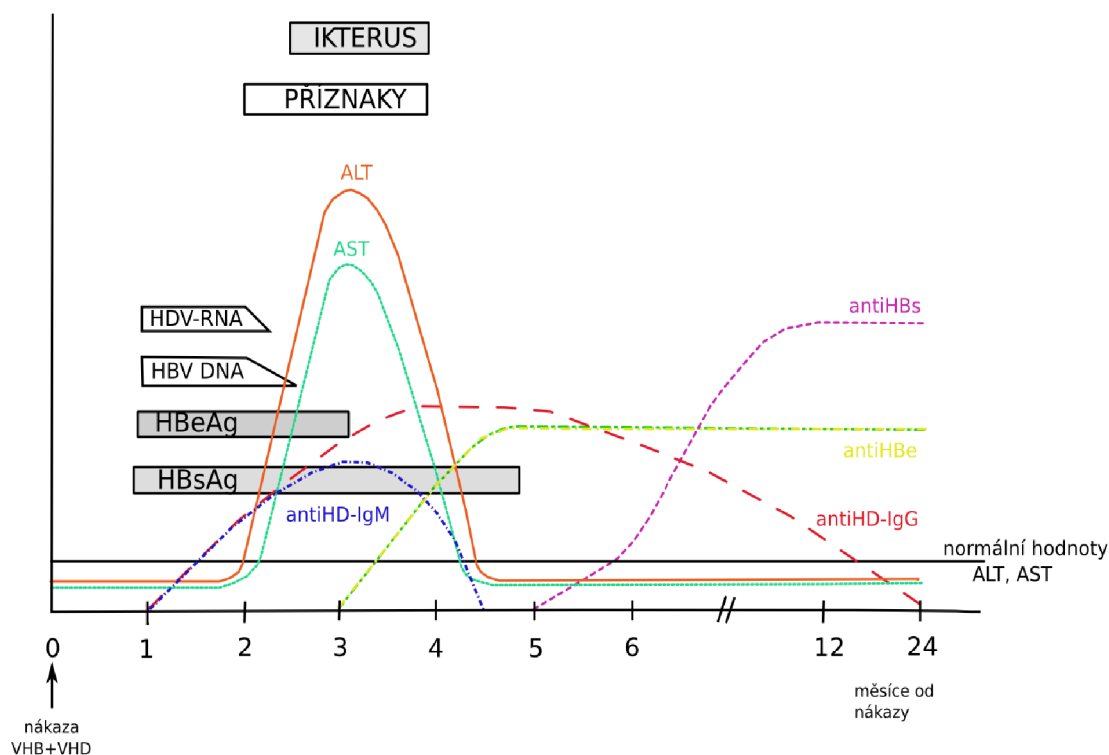
Virus hepatitidy D (HDV) je více podobný virům rostlinné říše, ale nověji je zařazován do zvláštní čeledi *Deltaviridae*. Velikost viru je cca 36 nm, skládá se z obalu a jádra. *Obal* je tvořen lipidy a HBsAg, který je nutný pro formování HDV. *Jádro* je tvořeno jediným antigenem HDV, a to HDAg, a virovou RNA, která antigen kóduje. Zánět a poškození hepatocytů způsobuje vlastní imunitní systém hostitele.

Doposud byly rozeznány tři genotypy, které se liší ve 30-40% sekvencí nukleotidů. Nejzávažnější jsou infekce genotypem III, nejčastější genotyp je I. Endemickou oblastí pro VHD je oblast kolem Amazonky, severní část Jižní Ameriky, z Evropy Rumunsko. Ve výše uvedených oblastech je u HBsAg pozitivních pacientů přítomna koinfekce HDV až v 90% případů.

### 4.2 Klinický průběh

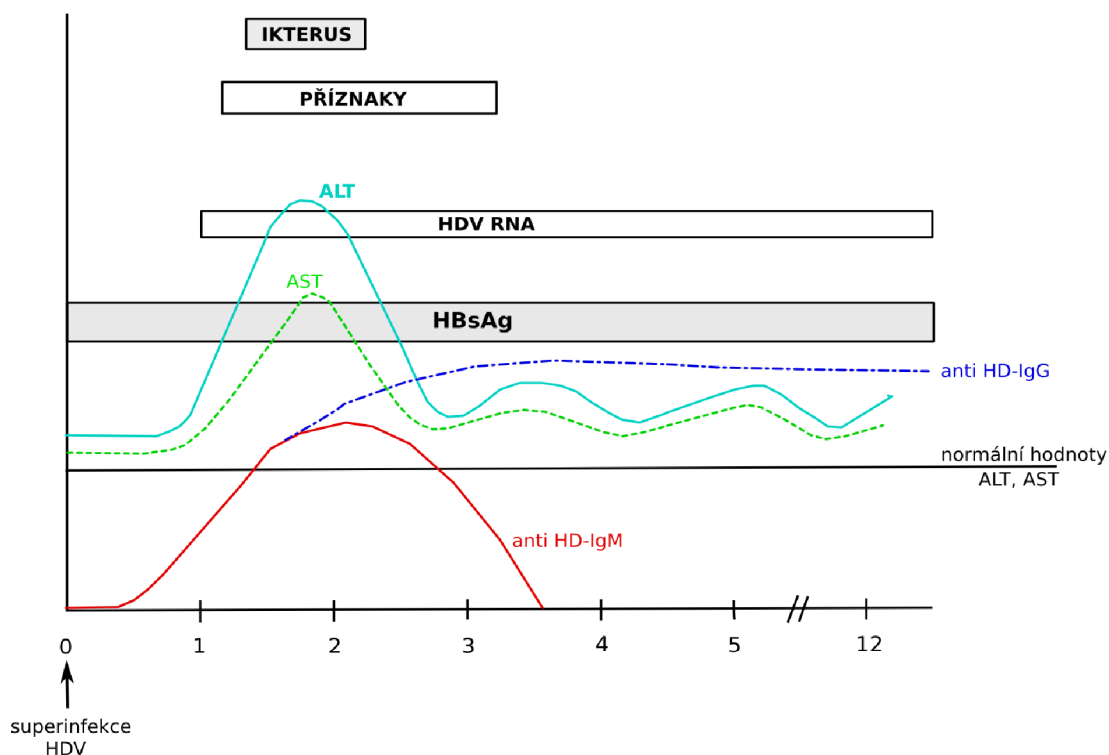
Infekce se přenáší především parenterální cestou (intravenózní aplikace drog, hemodialýza), vertikální přenos a přenos sexuálním stykem je také možný. Infekcí jsou ohroženi hlavně nemocní s chronickou VHB. Inkubační doba je 30-180 dní.

**Koinfekce** je stav, kdy je osoba nakažena virem HBV zároveň s HDV. Koinfekce obvykle končí úzdravou, jelikož eliminace HBsAg zamezuje replikaci HDV. Pokud však onemocnění přejde do chronického stavu rychle progreduje do jaterní cirhózy. V laboratorním nálezu krátce po detekci HBsAg můžeme nalézt IgM protilátky antiHD-IgM.



Obrázek 6: Průběh koinfekce HBV/HDV

Pokud k nákaze HDV dojde v průběhu chronické VHB nebo při asymptomatickém nosičství, nazýváme tento stav **superinfekcí**. Klinicky se projevuje jako náhlé zhoršení stavu chronické VHB. Tento stav má dvě fáze. V *iniciační* fázi je ve více jak 50% hepatocytů exprimován HDAg, replikace HBV DNA je dočasně utlumena. Klinicky se projevuje jako akutní hepatitida s těžkým průběhem, laboratorně vysokou virémií HDV a objevením antiHD-IgM. Druhá fáze – *chronická HBV/HDV* má kolísavý průběh s exacerbacemi, je charakteristická vzestupem antiHD-IgG protilátek (viz obr.č.7), přítomností HDAg a HDV RNA. Protilátky nemají protektivní efekt, jelikož HDAg je interní součástí virionu.



Obrázek 7: Průběh superinfekce HDV

Oba stavy jsou mohou být zkomplikovány fulminantním zvratem a vést k jaternímu selhání. Asi 1/3 všech fulminantních hepatitid je zapříčiněna kombinovanou infekcí HBV/HDV. K přechodu do chronicity dochází po superinfekci ve více než 70% případů (Krekulová, 2002).

### 4.3 Léčba

Terapie je pouze podpurná, fulminantní průběh je těžce zvladatelný, přistupuje se k transplantaci jater. 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. S malým úspěchem se používá lamivudin a intreferon  $\alpha$ .

Specifická aktivní či pasivní imunizace není k dispozici. Jelikož je infekce přenášena parenterálně platí pro ni stejná preventivní opatření jako pro hepatitidu B či C. Z preventivních opatření je nejúčinnější vakcinace proti HBV.

#### **4.4 Laboratorní diagnostika**

Diagnostika virové hepatitidy D je založena na průkazu HDAg a antiHD protilátek. Podmínkou pro diagnostiku je samozřejmě přítomnost HBV. Základní metodou je opět ELISA, přímý průkaz se v ČR neprovádí.

### **5 Virus hepatitidy E**

Tato hepatitida je svým průběhem podobná virové hepatidě A, dříve byla nazývána jako střevní nonA-nonB hepatitida. Toto onemocnění se většinou vyskytuje v rozvojových zemích, v České republice se objevuje pouze jako importovaná nákaza.

#### **5.1 Popis viru**

RNA virus o velikosti 27-34 nm byl dříve zařazen do čeledi *Calciviridae*, ale díky jeho odlišnostem byl z čeledi vyjmut a nyní zůstává taxonomicky nezařazen. Virový genom obsahuje tři otevřené čtecí rámce. Jsou známy 4 genotypy s různou geografickou distribucí, virus se vyskytuje v jednom sérotypu.

Základní cestou přenosu je fekálně-orální (kontaminovaná voda, potraviny). Virus hepatitidy E (HEV) je vylučován stolicí třetí týden po expozici asi 5-7 týdnů. Předpokládá se, že člověk není jediným hostitelem. HEV byl detekován u vepřů a krys v USA (Krekulová, 2002).

#### **5.2 Klinický průběh**

Hepatitida E (VHE) probíhá cholestatickou formou, končí však většinou úzdravou. Do chronicity VHE nepřechází. Onemocnění se vyskytuje převážně u dospívajících. Výjimkou jsou gravidní ženy, u kterých je častý fulminantní zvrát a vysoká mortalita.

Pro akutní VHE svědčí nález protilátek proti HEV (antiHEV). Po vyléčení protilátky mizí, není tudíž známo, zda po prodělaném onemocnění zůstává celoživotní imunita.

### **5.3 Léčba**

Podpůrná terapie a režimová opatření jsou základem léčby. Zvláštní pozornost se věnuje gravidním ženám.

Základem prevence je dodržování hygienických zásad při cestách do endemických oblastí.

### **5.4 Laboratorní diagnostika**

Základem pro diagnostiku je stanovení antiHEV protilátek metodou ELISA. V České republice mají tyto testy k dispozici pouze referenční laboratoře vzhledem k vzácnosti onemocnění na našem území. Pro detekci virové RNA se používá RT-PCR.

## **6 Virus hepatitidy 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 se vyskytuje i ve stolici zdravých opic. U člověka se pravděpodobně jednalo jen o náhodný nález (Krekulová, 2002).

## 7 Virus hepatitidy 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, HGBV-C.

Jedná se o RNA virus, patřící do čeledi *Flaviviridae*. Nestrukturní úseky genomu kódují helikázu, dvě proteázy. Virus se přenáší parenterálně, ale přenos pohlavním stykem a vertikálně není vyloučen. HGV není obligátně hepatotropní virus.

Akutní hepatitida probíhá mírnou formou, biochemické i histologické nálezy bývají v normě. Souvislost s chronicitou nebo fulminantním průběhem nebyla jasně prokázána. K léčbě je využíván samotný interferon  $\alpha$  nebo jeho kombinace s ribavirinem. Po antivirové léčbě často dochází k relapsům.

## 8 Další agens se vztahem k hepatálním lézím

### 8.1 Epstein – Baar virus

Jedná se o DNA virus patřící do čeledi *Herpesviridae*, podčeleď *Gammapherpesvirinae*. Přibližně 95% populace je tímto virem infikováno. Přenáší se orální cestou, zcela výjimečně by se EB-virus mohl přenést transfúzí.

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, následně dochází k replikaci. Tento proces probíhá v diferencovaných epiteliálních buňkách slinných žláz, epitelu nasofaryngu, bronchů a cervixu. Kompletní virové částice jsou vylučovány do slin.

Infekce virem jsou časté hlavně u dětí a mladých dospělých. U dětí infekce většinou probíhá asymptomaticky, u dospívajících se projeví jako **infekční mononukleóza** (tzv. nemoc z líbání). Inkubační doba je 30 – 45 dní. Klinicky se projevuje jako pseudomembranózní angina s krční lymfadenitidou. Onemocnění trvá 2 – 4 týdny. Onemocnění je často doprovázeno hepatomegalií, která je způsobena masivní lymfocytární infiltrací tkáně, a popř. postižením periferních nervů.

Laboratorní obraz je charakteristický nálezem atypických lymfoidních monocytů v krevním diferenciálu a pozitivitou heterofilních protilátek. Hodnoty bilirubinu a aminotransferáz jsou zvýšeny u více jak 50% případů. Vzestup hodnot je však menší než u akutní hepatitidy.

Závažnější onemocnění, která jsou zapříčiněna tímto virem, jsou - Burkittův lymfom (u dětí v Africe), nasofaryngeální karcinom nebo X – lymfoproliferativní syndrom.

Pro diagnostiku se využívá opět sérologických testů. Prokazujeme heterofilní protilátky nebo specifické protilátky proti virovým antigenům – **VCA** (virový kapsidový antigen), **EBNA1** (EB virový nukleární antigen 1), **EA** (časný antigen viru EB).

Paul – Bunnelloova reakce je založena na aglutinaci beraních erytrocytů heterofilními protilátkami. Test bývá pozitivní již během prvního týdne onemocnění. Novější modifikací je OCH test (ox cell hemolysis), který je založen senzibilizací hovězích erytrocytů heterofilními protilátkami, které jsou následně lyzovány komplementem. Specifické protilátky se diagnostikují metodou ELISA nebo imunofluorescencí.

Pro čerstvou infekci svědčí přítomnost VCA IgM a zároveň negativní anti-EBNA-1 protilátky. Několik týdnů po začátku onemocnění se objevují VCA IgG a EBNA IgG.

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).

Terapie mononukleózy je symptomatická, u těžších forem se indikují kortikoidy. Postižení jater vyžaduje dietní opatření a snížení fyzické aktivity.

## 8.2 Cytomegalovirus

Cytomegalovirus (CMV) je dalším zástupcem čeledi *Herpesviridae*. Virus vstupuje do organismu respiračním, urogenitálním nebo zažívacím traktem. Jediným zdrojem infekce je člověk, který virus vylučuje v moči, slzách, slinách, krvi, mateřském mléce a ve spermatu. CMV se v těle množí ve slinných žlázách, ledvinách a respiračním epitelu. K primární infekci může dojít kdykoliv během života, většinou probíhá inaparentně. Výjimečně vyvolává obraz podobný infekční mononukleóze.

Závažnější jsou kongenitální infekce neimunních matek. Onemocnění se nazývá **kongenitální cytomegalie**. Postižena jsou především játra, krvetvorba a mozek, což se projevuje hepatosplenomegalií, žloutenkou, hluchotou a mikrocefalií.

U imunokompromitovaných osob vyvolává CMV závažné příznaky, ať jde o infekci primární nebo reaktivovanou. Postiženy bývají zejména plíce, játra, dále pak jícn, střevo a sítnice. Cytomegalovirová infekce po transplantacích bývá spojena s horším přežitím štěpu. Zdrojem infekce bývá transplantovaný orgán a transfundovaná krev (Votava et al., 2003).

V léčbě cytomegalovirových infekcí se osvědčil ganciklovir a foskarnet. Vzhledem k jejich nežádoucím účinkům se podávají pouze v nejzávažnějších případech.



### 8.3 TT virus – transfusion transmitted 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  $\alpha$  nereaguje. Podle současného stupně vývoje vědeckých poznatků je pravděpodobné, že TTV je ubikvitně se vyskytujícím symbiontem člověka bez prokázané patogenity (Husa, 2005).

### 8.4 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 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.

### 8.5 Ostatní

**Virus Herpes Simplex** – HSV, zdrojem infekce je pouze člověk, většina populace je latentně nakažena. Typ 1 - primární infekce se projevuje u dětí jako *gingivomastitida*, popř. keratokonjunktivitida. U dospělých jako *faryngitida*. Primární infekce typem 2 se projeví jako *herpes genitalis*, u novorozenců a neimunních matek jako *generalizovaný herpes*, který postihuje kůži, mozek, plíce a játra. Rekurentní infekce se nejčastěji projevuje jako *herpes labialis*.

**Virus exanthema subitum** – lidský herpesvirus 6, primární infekce probíhá jako neurčité onemocnění s vysokou horečkou, u dětí se může objevit vyrážka (*exanthema subitum*). Vzácně je přítomna hepatitida a atypická lymfocytóza. Reaktivace infekce nastává u příjemců transplantovaných orgánů, horečky jsou doprovázeny encefalitidou, hepatitidou a zánětem plic.

Další virová agens, způsobující zánět jater jsou *adenoviry*, *virus varicella-zoster* – zánět jater bývá přidruženou komplikací základního onemocnění. Většinou se projevuje pouze u imunokompromitovaných jedinců nebo u vrozených nákaz.

Z bakteriálních agens je významná *Leptospira icterohaemorrhagiae*, která způsobuje *Weilovu nemoc*. Projevuje se ikterem, renálním selháváním někdy i hemoragickou pneumonií. Mortalita je relativně vysoká, kolem 10%. Po uzdravě játra nebývají poškozena.

## Praktická část

### 9 Laboratorní diagnostika hepatitid

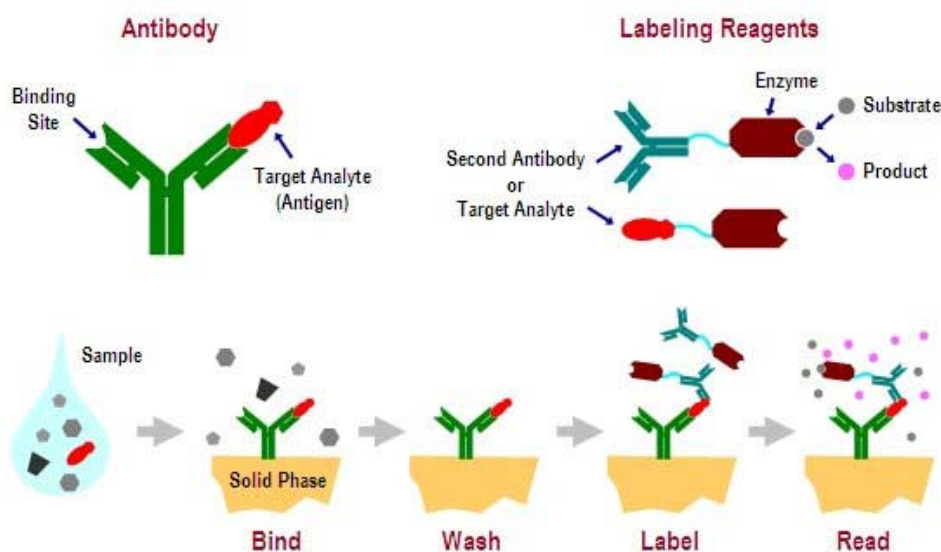
#### 9.1 Laboratorní metody – obecné principy

Laboratorní metody se dělí na metody přímého a nepřímého průkazu. *Přímým průkazem* dokazujeme přítomnost infekčního agens nebo jeho části ve vzorku. *Nepřímým průkazem* se rozumí důkaz a kvantifikace specifických protilátek.

Metody přímého průkazu – Nejpoužívanější metodou z této oblasti je **PCR**, kterou se prokazují virové 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. Často jsou používány různé modifikace PCR jako je např. real-time PCR. Pomocí PCR lze detekovat jak přítomnost viru tak množství virové nálože. Další metody přímého průkazu se pro svoji finanční i technickou náročnost neprovádí rutinně, jsou to: *izolace viru na buněčných kulturách, elektronová mikroskopie*.

Enzymoimunoanalýza - (EIA) je dnes nejpoužívanější metodou v imunologických laboratořích. EIA patří jak to přímého i nepřímého průkazu. Nejvyužívanějším testem enzymoimunoanalýzy je ELISA – enzyme linked immunosorbent assay. Základním principem je reakce protilátky s antigenem, kdy jedna z těchto složek je vázána na imunosorbent (obvykle polystyrénové jamky). Volná (nenavázaná) fáze je odstraněna promytím. Komplex antigen-protilátka je označen další protilátkou značenou enzymem. Po dalším promytí je přidán chromogenní substrát jehož štěpením enzymem vzniká barevná reakce. Po zastavení reakce se detekuje enzymová aktivita komplexu vázaného na pevné fázi (viz.obr.č.8). Tyto testy jsou velice citlivé a jsou plně automatizovatelné. Umožňují i kvantifikaci.

# ELISA



Obrázek 8: ELISA - princip přímého ELISA testu

V této kapitole jsme uvedli pouze principy imunologických vyšetření, která jsou pro diagnostiku hepatitid velmi významná.

## 9.2 Sérologické metody používané na oddělení mikrobiologie a imunologie v nemocnici Havlíčkův Brod

### 9.2.1 Průkaz antiHAV-IgM

Průkaz IgM protilátek se provádí na přístroji IMMULITE 2000.

**Princip:** chemiluminiscenční imunometrický test na pevné fázi. Pevná fáze je potažena monoklonální myší protilátkou proti lidské IgM protilátce. Tekutá fáze obsahuje proteinový pufr, HAV antigen a alkalickou fosfatázu konjugovanou s polyklonální králičí protilátkou. Vzniklý komplex je detekován přidáním chemiluminiscenčního substrátu.

**Vzorek:** Pro metodu se používá lidské sérum nebo plazma, 10 $\mu$ L

Přítomnost hemolýzy do 540mg/dL a lipémie do 3000mg/dL nemá vliv na výsledky

**Výpočet Cutoff:** C.O. se stanovuje kalibrací soupravy na přístroji pomocí definovaného kalibrátoru, v hodnotách CPS

- C.O. Je rovna průměrné hodnotě CPS kalibrátoru vynásobné parametrem kalibrační křivky 1(P1), který lze odečíst z obrazovky přístroje

**Interpretace výsledků:**  $C.O./S = \text{Průměr CPS adjustoru} \times P1 / \text{CPS vzorku}$

*Nereaktivní* = C.O./S poměr < 0,9

*Reaktivní* = C.O./S  $\geq$  1,1

*Nejasný* =  $0,9 < C.O./S \leq 1,1$

### 9.2.2 Průkaz HBsAg

**Název:** Hepanostika HBsAg Uni-Form II , fa Biomérieux

**Princip:** sendvičová ELISA. Mikrotitrační destičky jsou potaženy monoklonální myší anti-HBs. Jako konjugát se přidává anti-HBs značená křenovou peroxidázou, substrátem je tetrametylbenzidin. Při pozitivní reakci vzniká žluté zbarvení.

**Vzorek:** sérum či plazma, 100 $\mu$ L

**Výpočet Cutoff:** C.O. = Průměr absorbancí negativní kontoly (NCx) + 0,050

**Interpretace výsledků:** *Reaktivní*  $\geq$  C.O.

*Nereaktivní* < C.O.

*Nejasný* – nutno testovat konfirmačním testem

### 9.2.3 Konfirmační test HBsAg

**Název:** Hepanostika HBsAg Uni-Form II Confirmatory, fa Biomérieux

**Princip:** ELISA s použitím dvou roztoků – potvrzovací neutralizační protilátku (opičí anti-HBs v lidském séru) a potvrzovací kontrolu (opičí sérum v lidském séru).

**Vzorek:** sérum nebo plazma, 100 $\mu$ L. Vzorky, které byly reaktivní pomocí přípravku Hepanostika HBsAg Uni-form II s absorbancí  $\geq 2,0$  se musí ředit 11-krát roztokem chloridu sodného o koncentraci 0,15 mol/L.

**Výpočet výsledků:**  $S_c$  – absorbance vzorku + potvrzovací kontroly

$S_n$  – absorbance vzorku + neutralizační kontroly

$NC_x$  – střední hodnota absorbance negativní kontroly

$Mezní\ hodnota = NC_x + 0,025$

**Interpretace výsledků:** *Reaktivní* =  $Sc \geq mezní\ hodnota, S_n \leq 0,5(NC_x + Sc)$

*Nereaktivní* =  $Sc \geq mezní\ hodnota, S_n > 0,5(NC_x + Sc)$

Pokud je  $Sc$  menší než mezní hodnota, test se opakuje. Při opakovaném testování se stejným výsledkem je vzorek považován za nereaktivní.

#### 9.2.4 Průkaz HBe a antiHBe

**Název:** Monolisa HBe/anti-HBe PLUS, fa BIO-RAD

**Princip:** *HBeAg* – sendvičová ELISA, mikrotitrační jamky jsou potaženy lidskou anti-HBe protilátkou. Konjugátem jsou dva typy monoklonálních myších protilátek značených peroxidázou. Substrátem je tetrametylbendidin.

*Anti-HBe* – pevná fáze je stejná jako v předchozím případě. Test je založen na kompetici mezi imobilizovanou protilátkou a protilátkou obsaženou ve vzorku. Do reakce se přidává známé množství *HBeAg*.

**Vzorek:** sérum nebo plazma, 100 $\mu$ L, fibrinové agregáty mohou způsobovat falešně pozitivní výsledky

**Výpočet výsledků:**

*HBeAg* - **O.D.** = průměr negativní kontroly

**C.O.** = O.D. + 0,025

**Poměr** = O.D. vzorku/ C.O.

*Anti-HBe* – **C.O.** = O.D. x 0,4

**Poměr** = O.D. vzorku/ C.O.

**Interpretace výsledků:**

*HBeAg* – *pozitivní* = poměr  $\geq 1$

- *negativní* = poměr  $< 1$

*Anti-HBe* - *pozitivní* – poměr  $\leq 0,9$

- *negativní* – poměr  $> 1,1$

### 9.2.5 Průkaz anti - HCV

**Název:** ORTHO HCV 3.0 ELISA Test Systém with Enhanced SAve,  
Ortho Clinical Diagnostics

**Princip:** ELISA používající rekombinantní HCV antigen vázaný na dno jamky. Konjugátem je myší monoklonální protilátka značena peroxidázou. Substrátem je *o*-fenylendiamin. Pozitivním výsledkem je oranžové zbarvení.

**Vzorek:** sérum či plazma, 220  $\mu$ L

**Výpočet výsledků:**  $N_c$  = střední hodnota negativní kontroly

$$C.O. = N_c + 0,600$$

**Interpretace výsledků:** 1. pokud je hodnota absorbance vzorku rovna -0,025 opakuje se test v jedné jamce. Pokud je druhá hodnota menší než C.O. nebo menší než -0,025, je vzorek považován za negativní.

2. Absorbance vzorku větší nebo rovna -0,025 a menší než C.O. Je vzorek považován negativní

3. Absorbance vzorku je větší nebo rovna C.O. je považována za reaktivní, ale měly by být znovu testovány v dubletu. Pokud jsou jeden či oba výsledky pozitivní, je vzorek považován za pozitivní. Pokud jsou výsledky negativní, je vzorek považován za negativní.

- Na průkaz a kvantifikaci HCV RNA a na genotypizaci se vzorky posílají do fakultní nemocnice Hradec Králové.

### 9.3 Vyšetření při podezření na hepatitidu

- Laboratorní testy používané v hepatologii můžeme rozdělit do několika skupin: - testy odrážející poškození hepatocytů a drobných žlučvodů – ALT, AST, GMT, ALP (aminotransferázy ukazují na poškození hepatocytů a zvýšená fosfatáza jsou typické pro cholestázu)
- testy měřící kapacitu jater transportovat organické anionty a odstraňovat endogenní a exogenní látky z cirkulace – bilirubin, žlučové kyseliny
  - testy měřící syntetickou činnost jater – albumin, koagulační faktory
  - nespecifické testy neodrážející přímo metabolickou situaci jaterní, ale umožňující přesnou diagnózu – sérologické testy na hepatitidy, hladiny imunoglobulinů, specifické protilátky (Zima, 2002).

**Sérologická vyšetření** – základním vyšetřením je tzv. *specifický blok hepatitid* (A, B, C), ve kterém se prokazují antigeny a protilátky metodami uvedenými v kapitole 9.2.

Při negativitě tohoto bloku a ostatních základních biochemických markerů se provádí tzv. *nespecifický blok protilátek* – zarděnky, příušnice, spalničky a dále vyšetření na *leptospiry*.

Doplňujícím vyšetřením je vyšetření *autoimunity* při negativitě všech základních biochemických, hematologických i imunologických testů, které zachycuje hlavně autoimunitní hepatitidy.

Toto vyšetření obsahuje průkaz :

- *antimitochondriálních protilátek (AMA)*
- průkaz *autoprotiátek LKM-1* – jsou zaměřeny proti mikrosomům jater a ledvin (liver kidney microsomes), vyskytují se u autoimunitní hepatitidy a u chronické hepatitidy C,
- *anti LC-1* – protilátky proti jaternímu cytosolu typu 1 (liver cytosolic - 1), pozitivní u autoimunitní hepatitidy



- *anti SLA* – protilátky proti rozpustnému jaternímu antigenu (soluble liver antigen)
- *anti actin protilátky* – pozitivní u autoimunitní hepatitidy
- *anti dsDNA a ANF*

### **Biochemická vyšetření**

Játra jsou orgánem s velkou funkční rezervou a vynikající regenerační činností, proto řada vyšetření je pozitivní až v pokročilé fázi onemocnění. V úvodní fázi může být řada výsledků falešně negativních (Zima, 2002).

Řada biochemických vyšetření je nespecifických a mohou se vyskytovat i u jiných nejaterních onemocnění

Základní biochemická vyšetření při podezření na hepatitidu jsou:

**ALT** – alaninaminotransferáza, vyskytuje se v cytosolu hepatocytů, její zvýšení odráží poškození hepatocytů a drobných žlučovodů.

**AST** - aspartátaminotransferáza, vyskytuje se jak v játrech (cytosol a mitochondrie), tak v myokardu, kosterní svalovině a erytrocytech.

Aminotransferázy jsou nejčastěji používanými enzymy indikující jaterní poškození. Sérové aktivity AST a ALT jsou zvýšeny u většiny jaterních chorob, hodnota ALT je vždy vyšší než AST, s výjimkou alkoholického jaterního poškození. Více než dvacetinásobné zvýšení aktivity sérových aminotransferáz je charakteristické pro akutní virovou hepatitidu (Jirsa, 2000), chronické hepatitidy provází zvýšení méně než trojnásobné. Při virové hepatitidě je typický poměr  $AST/ALT < 1$  (Zima, 2002). Velikost zvýšení odráží rozsah poškození, ale není odhadem prognózy.

**Bilirubin** – poškození hepatocytů vede k poruše exkrece bilirubinu, to má za následek zvýšení jeho hladin. Většina hepatitid probíhá aniktericky, ikterus se projevuje žlutým zbarvením kůže a sliznic, světlou stolicí a tmavou močí

**GMT** – gammaglutamyltransferáza, je přítomna ve žlučových cestách, hepatocytech a ve tkáni pankreatických vývodů.

Jedná se o nepříliš specifický marker jaterního onemocnění, více než 10-ti násobné zvýšení obvykle provází cholestázu, obstrukční ikterus a primární i metastatické nádory jater (Jirsa, 2000). Hodnoty ovšem stoupají i u celé řady mimojaterních onemocnění – infarkt myokardu, diabetes, renální insuficience, onemocnění pankreatu.

**ALP** - alkalická fosfatáza – jaterní izoenzym, nachází se v buněčných membránách výstelky žlučových cest. Zvýšené hodnoty doprovází chronické jaterní choroby s cholestázou.

**Glukóza** – asi 20% pacientů s chronickou hepatitidou nebo cirhózou jater má manifestní diabetes, u akutní hepatitidy bývá častá postprandiální hyperglykémie.

**Urea** – vzniká v játrech v Krebsově cyklu, konečný metabolit bílkovinného dusíku, urogenese probíhá pouze v játrech, proto jejich poškození vede ke snížení hladin urey.

**Kreatinin** – snížené hodnoty ukazují na hepatorenální syndrom

**Albumin** – produkován hepatocyty, poločas albuminu je dlouhý, proto se nehodí pro posouzení syntetické činnosti jater u akutních jaterních chorob. U těžké hepatopatie nacházíme hypoalbuminémii.

**Triglyceridy, Cholesterol** – u akutních jaterních lézí stoupají hladiny triglyceridů a klesají estery cholesterolu

- u chronických onemocnění jsou obdobné nálezy, ale méně výrazné
- cholesterol klesá až v pokročilých fázích jaterního selhávání
- toto vyšetření je někdy doplněno elektroforézou bílkovin

**Nespecifické nálezy:** Na, K, Cl, Ca, P - změny hladin u jaterního selhání

- pokud jsou všechna tato vyšetření negativní vyšetřuje se dále

**Ceruloplasmin** – zvýšené hodnoty se vyskytují u akutní hepatitidy, snížené hodnoty jsou projevem jaterní manifestace Wilsonovy choroby.

**$\alpha$ 1 – antitrypsin** – vzniká v játrech, snížené hladiny se vyskytují u těžkých hepatopatií.

**Železo** – hladina stoupá vlivem poškození hepatocytů

**Transferin** – transportní bílkovina pro železo

U chronických hepatopatií klesá v důsledku poklesu proteosyntetické kapacity jater. Hodnoty nad 3 g/L svědčí pro cirhózu, hodnoty mezi 1,8 – 3,0 g/L bývají u hepatitidy.

- při podezření na suspektní hemolýzu je vyžadováno vyšetření haptoglobinu
- amoniak a lipidogram jsou vyžadovány u suspektního etylismu

**Hematologické vyšetření** – základní vyšetření obsahuje Quickův test (protrombinový test – PT), aktivovaný parciální tromboplastinový test (APTT) a vyšetření krevního obrazu s diferenciací

Quickův test zachycuje aktivitu zevního koagulačního systému, jelikož protrombin má krátký poločas odráží rychle změny proteosyntetické funkce jater. Hodí se tedy u akutních jaterních stavů nebo u progresu do jaterního selhání. Prodloužení protrombinového času je nepříznivým prognostickým ukazatelem.

- při podezření na suspektní hemolýzu se dále vyšetřují retikulocyty a Coombsův test
- veškerá laboratorní vyšetření jsou ještě doplněna ultrazvukem břicha

Analyt		Fyziologické rozmezí
<b>Urea</b>		3,0 – 8,3 mmol/L
<b>Kreatinin</b>	muži	44 – 110 $\mu$ mol/L
	ženy	44 - 104 $\mu$ mol/L
<b>Glukóza</b>		3,3 – 5,6 mmol/L
<b>Bilirubin</b>		2 – 17 $\mu$ mol/L
<b>ALT</b>	muži	0,17 – 0,83 $\mu$ kat/L
	ženy	0,17 – 0,58 $\mu$ kat/L
<b>AST</b>	muži	0,17 – 0,83 $\mu$ kat/L
	ženy	0,17 – 0,58 $\mu$ kat/L
<b>GMT</b>	muži	0,17 – 1,1 $\mu$ kat/L
	ženy	0,08 – 0,65 $\mu$ kat/L
<b>ALP</b>	muži	0,67 – 2,15 $\mu$ kat/L
	ženy	0,58 – 1,74 $\mu$ kat/L
<b>AMS</b>		0,47 – 1,7 $\mu$ kat/L
<b>Cholesterol</b>		< 5,2 mmol/L
<b>CRP</b>		< 5 mg/L
<b>Na</b>		135 – 145 mmol/L
<b>K</b>		3,5 – 5,1 mmol/L
<b>Cl</b>		97 – 108 mmol/L
<b>P</b>		0,87 – 1,45 mmol/L
<b>Ca</b>		2,20 – 2,55 mmol/L
<b>NH<sub>3</sub></b>	muži	16 – 60 $\mu$ mol/L
	ženy	11 – 51 $\mu$ mol/L
<b>Transferin</b>		2,0 – 3,4 g/L
<b><math>\alpha</math>1antitrypsin</b>		0,9 – 2 g/L
<b>Albumin</b>		34 – 48 g/L
<b>Triglyceridy</b>		0,68 – 1,69 mmol/L
<b>LDL</b>		< 3,4 mmol/L
<b>HDL</b>	muži	0,9 – 1,42 mmol/L
	ženy	1,16 – 1,68 mmol/L

*Tabulka 4: Fyziologická rozmezí analytů*

## 9.4 Pacienti s hepatitidou hlášení v r. 2007 a jejich laboratorní vyšetření

V této kapitole uvedeme jednotlivé pacienty s hepatitidou virového původu, kteří byli hlášení v roce 2007. U pacientů, kteří měli častá biochemická vyšetření (např. každý týden), jsme vybrali pouze ta, která odpovídají měsíčnímu intervalu mezi jednotlivými náběry, z důvodu velkého množství dat a následné nepřehlednosti. Veškerá data byla zpracována programem openoffice.org.

Zvýšené nebo snížené hodnoty jednotlivých analytů jsou označeny červeně. Šipky označují zvýšení či snížení hodnot.

Vyšetření označená takto: / nebyla v daný den vyžadována.

**Pacient A**, ročník 86. - experimentoval 2 roky s i.v. podáváním Pervitinu

- v listopadu 2006 zjištěny vysoké transaminázy a HCV pozitivita, odeslán na vyšetření do hepatální poradny
- dne 25.1.2007 – závěr diagnózy = stav po akutní hepatitidě C, určen genotyp 1b
- pro nedávno proběhlou (probíhající) akutní VHC svědčí mnohonásobně zvýšené hodnoty transamináz, jelikož u chronické VHC se aktivity těchto enzymů zvyšují maximálně do dvojnásobku horní hranice

<b>Pacient A</b>	7.11.2006	8.1.2007	10.1.2007	12.1.2007
antiHBs	/	/	Pozitivní *	negativní
HBsAg	/	/	/	/
antiHBe	/	/	/	negativní
HBeAg	/	/	/	negativní
antiHCV	reaktivní	reaktivní	/	/
antiHAV IgM	/	/	/	/
antiHAV total	/	pozitivní	/	/
HIV	/	/	negativní	/

Tabulka 5: Sérologická vyšetření pacienta A v čase

\* pozitivní z tohoto náběru, při opakovaném vyšetření dne 12.1. negativní

<b>Pacient A</b>	8.1.2007	9.1.2007	10.1.2007	12.1.2007	17.1.2007	25.1.2007	16.3.2007
Glu [mmol/L]	6 ↑	5,8 ↑	/	/	/	/	/
Bili [μmol/L]	14	13	29 ↑	24 ↑	20 ↑	8	10
ALT [μkat/L]	10,48 ↑↑	9,02 ↑↑	11,11 ↑↑	8,44 ↑	2,85 ↑	0,79	0,31
AST [μkat/L]	5,04 ↑↑	4,35 ↑↑	5,55 ↑↑	2,74 ↑	0,68	0,62	0,43
ALP [μkat/L]	2,07	1,85	1,95	1,76	1,68	1,22	1,23
AMS [μkat/L]	0,97	0,88	/	/	/	/	/
GMT [μkat/L]	1,16 ↑	1,14 ↑	/	/	/	0,49	0,33
Urea [mmol/L]	/	3,5	/	/	/	/	/
Krea [μmol/L]	/	84,2	/	/	/	/	/
CK [μkat/L]	/	1,4	/	/	/	/	/
Chol [mmol/L]	/	4,68	/	/	/	/	/
B-Li	/	5	/	/	/	/	/
TG [mmol/L]	/	1,34	/	/	/	/	/
HDL [mmol/L]	/	1,05	/	/	/	/	/
LDLc [mmol/L]	/	3,02	/	/	/	/	/
Na [mmol/L]	/	138	/	/	/	/	/
K [mmol/L]	/	4,4	/	/	/	/	/
Cl [mmol/L]	/	102	/	/	/	/	/
CRP [mg/L]	/	1,14	/	/	/	/	/
ALB [g/L]	/	43	/	/	/	/	/

Tabulka 6: Biochemická vyšetření pacienta A v čase

**Pacient B**, 54.ročník – 17.4.2007 přijat na infekční oddělení s akutní VHB

- pacient má diabetes II.typu nekompensovaný a hypertenzi II. stádia
- v tabulce č. 7 jsou sérologická vyšetření v čase, která poukazují na akutní hepatitidu B a počínající sérokonverzi (vymizení HBeAg a objevení antiHBe)
- z biochemických vyšetření pro akutní hepatitidu svědčí vysoké hodnoty transamináz a bilirubinu
- hodnoty glukózy jsou zvýšeny po celou dobu sledování v hepatální poradně, což je způsobeno špatně kompenzovaným diabetem II.typu

<b>Pacient B</b>	17.4.2007	25.7.2007	19.3.2008
antiHBe	negativní	negativní	pozitivní
HBeAg	pozitivní	negativní	negativní
antiHCV	negativní	/	/
antiHAV IgM	negativní	/	/
antiHAV total	negativní	/	/
HBsAg konfirmační	pozitivní	/	/
HBsAg	pozitivní	opak.testu	negativní
antiHBs	/	< 3	16,1

Tabulka 7: Sérologická vyšetření pacienta B v čase

<b>Pacient B</b>	17.4.2007	21.5.2007	12.6.2007	25.7.2007	9.10.2007	19.3.2008
Glu [mmol/L]	14,2 ↑↑	10,9 ↑	9,7 ↑	13,3 ↑	11,9 ↑	17,8 ↑↑
Bili [μmol/L]	30,8 ↑	48 ↑	13	6	5	7
ALT [μkat/L]	35,78 ↑↑	0,5	0,37	0,43	0,5	0,73
AST [μkat/L]	27,61 ↑↑	0,53	0,38	0,39	0,34	0,55
ALP [μkat/L]	1,68	0,91	0,8	0,91	0,89	1,09
AMS [μkat/L]	0,27 ↓	0,59	0,59	/	0,56	/
GMT [μkat/L]	/	1,97 ↑	1,19 ↑	1 ↑	0,75 ↑	/
Urea [mmol/L]	4,2	/	4,5	/	/	/
Krea [μmol/L]	/	/	39,7	51,3	/	/
Na [mmol/L]	133 ↓	/	/	/	/	/
K [mmol/L]	4,2	/	/	/	/	/
Cl [mmol/L]	101	/	/	/	/	/
CRP [mg/L]	23,35 ↑↑	/	/	/	/	/
INR	/	1,15	1,05	1,03	0,98	/

Tabulka 8: Biochemická vyšetření pacienta B v čase

**Pacient C**, ročník 55., chronická VHC

- pacient uvádí vyšší konzumaci alkoholu před 8 lety a diabetes II.typu nekompensovaný, což má na svědomí zvýšené hodnoty glukózy po celou dobu sledování v hepatální poradně
- chronická hepatitida je charakteristická pouze mírným zvýšením transamináz, hodnoty v průběhu onemocnění kolísají

<b>Pacient C</b>	18.5.2007	7.6.2007
HBsAg	negativní	negativní
antiHCV	pozitivní	pozitivní
antiHAV IgM	negativní	/
antiHAV total	neimunní stav	/

*Tabulka 9: Sérologická vyšetření pacienta C*

<b>Pacient C</b>	18.5.2007	26.6.2007	4.7.2007	16.8.2007	27.9.2007	25.10.2007	27.11.2007	17.12.2007
Glu [mmol/L]	11,1 ↑↑	12 ↑↑	11,2 ↑↑	10 ↑↑	9,7 ↑↑	/	9,8 ↑↑	8,9 ↑
Bili [μmol/L]	20 ↑	18 ↑	17	17	12	12	14	12
ALT [μkat/L]	3,07 ↑	2,85 ↑	2,85 ↑	1,39 ↑	1,18 ↑	1,34 ↑	1,34 ↑	1,6 ↑
AST [μkat/L]	2,57 ↑	2,24 ↑	2,04 ↑	1,24 ↑	1,25 ↑	1,3 ↑	1,25 ↑	1,46 ↑
ALP [μkat/L]	1,17	1,07	1,07	1,04	1,05	/	/	1,08
AMS [μkat/L]	1,3	1,28	/	/	/	/	/	/
GMT [μkat/L]	3,42 ↑	2,54 ↑	2,49 ↑	/	1,34 ↑	/	/	1,14 ↑
Urea [mmol/L]	3	3,8	/	4,2	/	/	/	/
Krea [μmol/L]	52,2	36,1	/	71,3	58,1	60,5	65,3	70,7
Chol [mmol/L]	3,35	/	3,13	/	/	/	/	3,67
B-Li	3,7	/	2,9	/	/	/	/	3,3
TG [mmol/L]	1,15	/	1,29	/	/	/	/	1,2
Na [mmol/L]	136	137	/	/	/	/	/	/
K [mmol/L]	4,1	4,5	/	/	/	/	/	/
Cl [mmol/L]	101	102	/	/	/	/	/	/
Ca [mmol/L]	/	2,31	/	/	/	/	/	/
P [mmol/L]	/	0,88	/	/	/	/	/	/
CRP [mg/L]	0,63	/	/	/	/	/	/	/
ALB [g/L]	/	41	/	/	42	/	/	47

*Tabulka 10: Biochemická vyšetření pacienta C v roce 2007*



<b>Pacient C</b>	17.1.2008	14.2.2008	13.3.2008	10.4.2008
Glu [mmol/L]	/	7,2 ↑	7,8 ↑	7,6 ↑
Bili [μmol/L]	/	10	10	10
ALT [μkat/L]	1,47 ↑	1,19 ↑	1,15 ↑	1,36 ↑
AST [μkat/L]	1,37 ↑	1 ↑	0,97 ↑	1,16 ↑
ALP [μkat/L]	/	/	1,06	/
GMT [μkat/L]	/	/	1,05	/
Urea [mmol/L]	/	/	5,2	/
Krea [μmol/L]	/	63,1	69,5	64,1
ALB [g/L]	/	/	49	/

*Tabulka 11: Biochemická vyšetření pacienta C v roce 2008*

**Pacient D**, ročník 69 – hlášena akutní hepatitida B

- bohužel u tohoto pacienta jsou k dispozici pouze tato data, není zde tedy zcela zachycen počátek onemocnění
- dle sérologického nálezu lze usuzovat na akutní hepatitidu ve stádiu sérokonverze, hodnoty transamináz jsou zvýšeny pouze mírně

<b>Pacient D</b>	20.3.2008
antiHBs	7,9
AntiHBe	pozitivní
HBsAg	negativní
HBeAg	negativní
HCV	negativní

*Tabulka 12: Sérologická vyšetření pacienta D*

<b>Pacient D</b>	10.1.2008	20.3.2008
Glu [mmol/L]	4,5	4,8
Bili [μmol/L]	16	11
ALT [μkat/L]	1,08 ↑	0,28
AST [μkat/L]	0,61 ↑	0,3
ALP [μkat/L]	0,84	0,57
AMS [μkat/L]	1,05	0,99
GMT [μkat/L]	1,07 ↑	0,31
Urea [mmol/L]	/	2,9
Krea [μmol/L]	/	47,5

*Tabulka 13: Biochemická vyšetření pacienta D*

**Pacient E**, ročník 87, chronická hepatitida C

- jedná se o toxikomana (i.v. podávání pervitinu)
- v sérologii byla prokázána pozitivita antiHCV opakovaně
- určen typ 1b s vyšší aktivitou, dále prokázána jaterní léze
- jaterní léze se u tohoto pacienta projevuje také vyššími hodnotami transamináz a GMT
- pozitivita celkových protilátek proti HAV svědčí pro imunní stav

<b>Pacient E</b>	27.8.2007	29.8.2007
HIV	negativní	negativní
HBsAg	negativní	negativní
antiHCV	reaktivní	pozitivní
antiHAV IgM	negativní	negativní
antiHAV total	pozitivní	pozitivní

*Tabulka 14: Sérologické nálezy u pacienta E*

<b>Pacient E</b>	29.8.2007	18.10.2007
Glu [mmol/L]	4,4	5,3
Bili [ $\mu$ mol/L]	5	9
ALT [ $\mu$ kat/L]	2,81 ↑	3,67 ↑
AST [ $\mu$ kat/L]	1,58 ↑	2,6 ↑
ALP [ $\mu$ kat/L]	1,62	0,93
AMS [ $\mu$ kat/L]	/	0,57
GMT [ $\mu$ kat/L]	1,07 ↑	0,54
Urea [mmol/L]	4,9	/
Krea [ $\mu$ mol/L]	48,1	/

*Tabulka 15: Biochemická vyšetření pacienta E v čase*

**Pacient F**, ročník 61, chronická hepatitida C

- byl určen genotyp 1b
- pacient je léčen pegylovaným interferonem a ribavirinem
- jelikož hodnoty aminotransferáz jsou normalizovány delší časové období pacient má velmi malé riziko progresse jaterního poškození

<b>Pacient F</b>	26.6.2007	28.6.2007
HIV	negativní	negativní
HBsAg	negativní	negativní
antiHCV	reaktivní	pozitivní
antiHAV IgM	negativní	negativní
antiHAV total	negativní	negativní

*Tabulka 16: Sérologické nálezy u pacienta F*

<b>Pacient F</b>	10.7.2007	2.8.2007	13.9.2007	10.10.2007	8.11.2007	6.12.2007
Glu [mmol/L]	4,5	/	/	4,6	/	/
Bili [μmol/L]	5	10	9	8	7	4
ALT [μkat/L]	2,03 ↑	0,64	0,33	0,34	0,36	0,37
AST [μkat/L]	1,14 ↑	0,49	0,39	0,34	0,34	0,36
ALP [μkat/L]	0,73	/	/	0,65	/	/
GMT [μkat/L]	1,06 ↑	/	/	0,35	/	/
Urea [mmol/L]	5,1	/	/	4,2	/	/
Krea [μmol/L]	67	60,2	64,5	58,6	67,4	66,7
Chol [mmol/L]	/	/	/	7,19	/	/
B-Li	/	/	/	4,5	/	/
TG [mmol/L]	/	/	/	1,16	/	/
ALB [g/L]	/	/	/	43	/	/

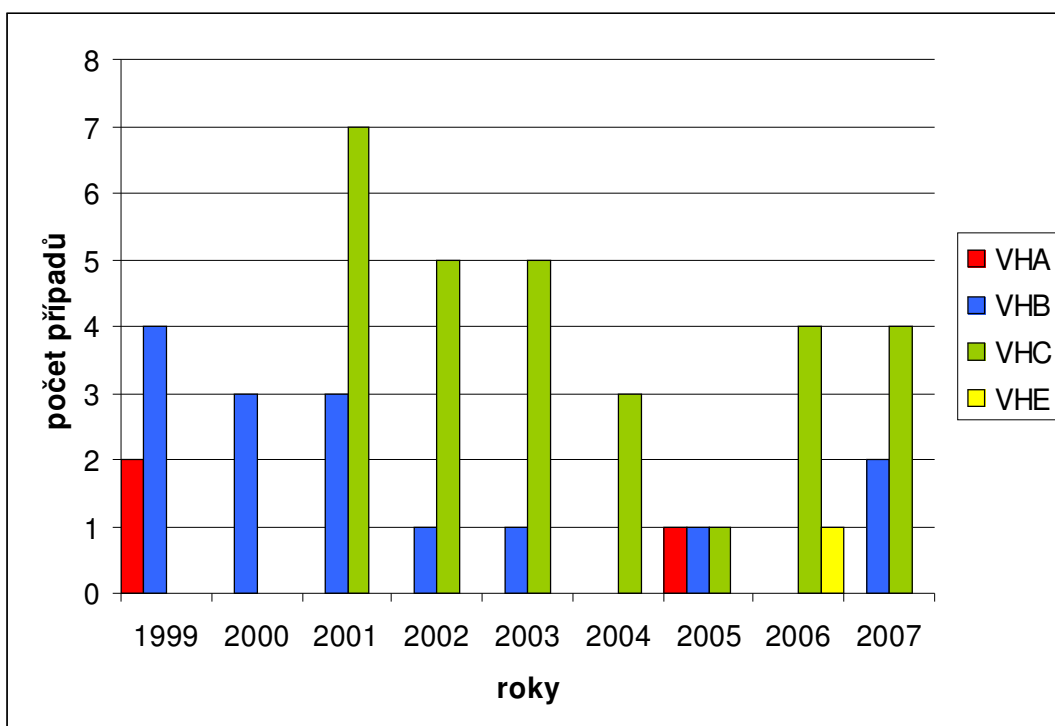
*Tabulka 17: Biochemická vyšetření pacienta F v roce 2007*

<b>Pacient F</b>	31.1.2008	28.2.2008	27.3.2008	24.4.2008
Glu [mmol/L]	/	/	4	/
Bili [ $\mu$ mol/L]	6	4	7	6
ALT [ $\mu$ kat/L]	0,33	0,29	0,33	0,31
AST [ $\mu$ kat/L]	0,34	0,35	0,33	0,34
ALP [ $\mu$ kat/L]	/	/	0,63	/
GMT [ $\mu$ kat/L]	/	/	0,33	/
Krea [ $\mu$ mol/L]	63,1	58	61	63
Chol [mmol/L]	/	/	5,03	/
B-Li	/	/	4,2	/
TG [mmol/L]	/	/	1,04	/
ALB [g/L]	/	/	44	/

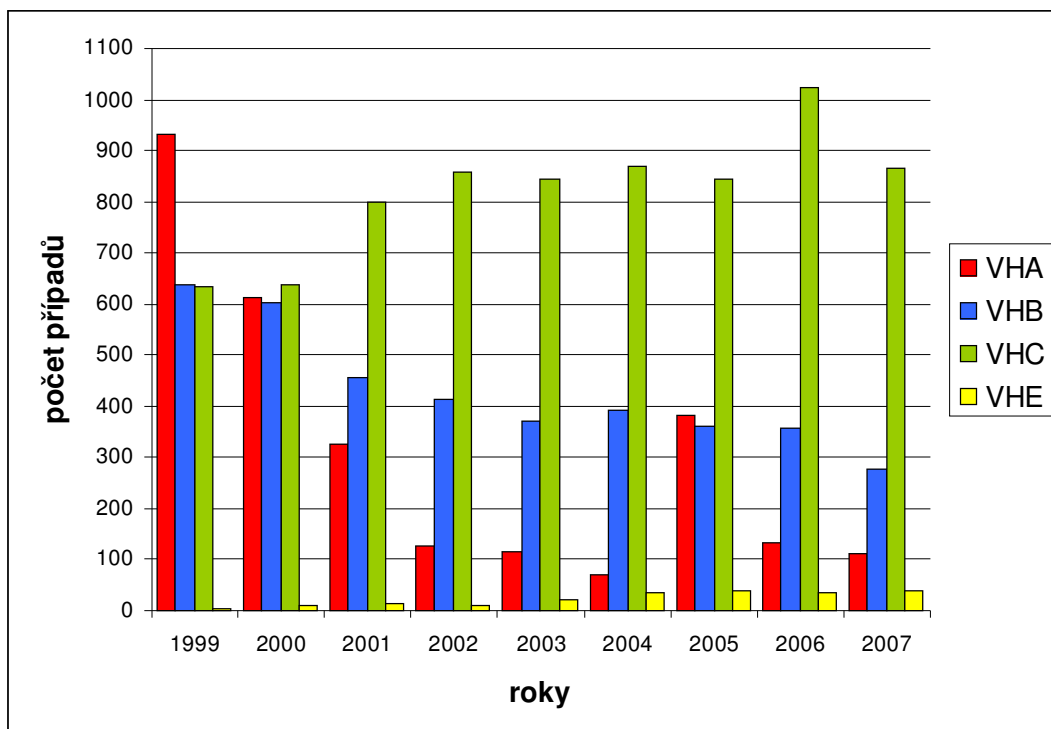
*Tabulka 18: Biochemická vyšetření pacienta F v roce 2008*

## 10 Porovnání hlášených případů ve spádové oblasti Havlíčkův Brod s hlášenými případy v celé ČR od r. 1999–2007

V této kapitole je shrnut počet hlášených případů jednotlivých hepatitid ve spádové oblasti Havlíčkův Brod od roku 1999 do roku 2007 a tento počet je porovnán s hlášenými případy pro celou Českou republiku v tom samém období. Zdrojem dat byl EPIDAT.



Graf 1: Počet hlášených případů jednotlivých hepatitid ve spádové oblasti Havlíčkův Brod v letech 1999–2007



*Graf 2: Počet hlášených případů jednotlivých hepatitid v celé ČR v letech 1999-2007*

Z grafů je patrné, že v České republice stoupá počet případů virové hepatitidy C. Stoupající počet virových hepatitid E souvisí s růstem cestování do endemických oblastí, jedná se tedy o importované nákazy.

## Diskuze

Z uvedených dat je zřejmé, že pro diagnostiku hepatitid je nejvíce důležitá sérologie, která nám umožňuje určit virové agens, které onemocnění způsobilo a průběh samotného onemocnění. Je také vhodná pro monitorování léčby a odpovědi pacienta na ni. V současné době má v sérologii nejdůležitější postavení imunoanalýza, díky své citlivosti, specifičnosti a ceně. Molekulárně-genetické metody ovšem nabývají během posledních let na významu, jelikož díky nim lze prokázat přímo virový genom a kvantifikovat virovou nálož, což imunoanalýza neumožňuje.

Biochemická vyšetření jsou také důležitá, poněvadž většina pacientů je odesílána do hepatální poradny na základě zjištění zvýšených hodnot jaterních enzymů. Hodnoty jaterních testů také vypovídají o poškození jaterního parenchymu, tedy o závažnosti onemocnění. K monitorování pacienta během onemocnění plně postačuje stanovení ALT, AST popř. GMT a bilirubinu, jelikož právě tyto hodnoty bývají nejčastěji zvýšeny a korelují s průběhem onemocnění.

Ostatní jaterní enzymy a další analyty prokazující jaterní poškození je vhodné stanovovat v delším časovém intervalu (3 nebo 6 měsíců), jelikož nejsou tak specifická jako ALT, AST a GMT.

Dle uvedených výsledků je zřejmé, že v současné době je nejvýznamnějším problémem v tomto oboru virová hepatitida C, jelikož není možná vakcinace proti tomuto onemocnění a počet případů neustále stoupá.

## **Závěr**

Jak již bylo uvedeno v úvodu této práce, našim cílem bylo shrnout informace o jednotlivých virových i bakteriálních agens způsobujících hepatitidu a informace o jejich laboratorní diagnostice.

Při stanovování diagnózy jsou samozřejmě důležitá anamnestická data, ale pouze sérologická vyšetření dokáží přesně určit původce onemocnění, tzn. přesnou diagnózu.

V posledních letech došlo k velkému rozvoji nových imunoanalytických postupů. Enzymoimunoanalýza poskytuje mimořádně přesné a reprodukovatelné výsledky. Její výhodou je také automatizace metody a s ní související rychlost a uživatelský komfort.

Biochemické testy se hodí pro sledování průběhu onemocnění vzhledem k poškození jaterního parenchymu.



## Seznam zkratek

ALT	alaninaminotransferáza
antiHAV-IgG	specifické protilátky IgG proti viru hepatitidy A
antiHAV-IgM	specifické protilátky IgM proti viru hepatitidy A
antiHBc-IgG	specifické protilátky IgG proti dřeňovému antigenu viru hepatitidy B
antiHBc-IgM	specifické protilátky IgM proti dřeňovému antigenu viru hepatitidy B
antiHBe	specifické protilátky proti časnému antigenu viru hepatitidy B
antiHBs	protilátky proti povrchovému antigenu hepatitidy B
antiHCV	protilátky proti viru hepatitidy C
antiHD-IgM	specifické protilátky IgM proti delta agens
antiHEV	protilátky proti viru hepatitidy E
AST	aspartátaminotransferáza
CMV	cytomegalovirus
ELISA	enzyme-linked immunosorbent assay
HAV	virus hepatitidy A
HBcAg	Hepatitis B core antigen (dřeňový antigen)
HBeAg	Hepatitis B early antigen (časný antigen)
HBsAg	Hepatitis B surface antigen (povrchový antigen)
HBV	virus hepatitidy B
HCV	virus hepatitidy C
HDAg	antigen delta agens
HDV	delta agens, virus hepatitidy D
HEV	virus hepatitidy E
HGV	virus hepatitidy G
INF $\alpha$	interferon $\alpha$
PCR	polymerase chain reaction polymerázová řetězová reakce

RIBA	recombinant immunoblot assay
TTV	transfusion transmitted virus
VHA	virová hepatitida A
VHB	virová hepatitida B
VHC	virová hepatitida C
VHD	virová hepatitida D
VHE	virová hepatitida E

## Seznam použité literatury

1. URBÁNEK, Petr. Infekce virem Hepatitidy C. 1.vyd. Praha: Galén, 2004. 221s.
2. MELICHAR, Bohuslav. Úloha farmakoterapie v komplexní léčbě nádorů jater. 1.vyd. Praha: Galén, 2007.
3. KREKULOVÁ, Laura, ŘEHÁK, Vratislav. Virové hepatitidy - Prevence, diagnostika a léčba. 2.vyd. Praha: Triton, 2002.
4. HORÁK, Jiří, STRÍTESKÝ, Jan. Chronické hepatitidy. 1.vyd. Praha: Grada publishing, 1999.
5. SOUČEK, M., ŠPINAR, J., SVAČINA, P., a kolektiv. Vnitřní lékařství pro stomatology, 1.vyd. Praha: Grada publishing, 2005. str. 231-235
6. Hepatitis C, Fact sheet N° 164,  
Online: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs164/en/index.html>
7. VOTAVA, M., ČERNOHORSKÁ, L., HEROLDOVÁ, M., HOLÁ, V., MEJZLÍKOVÁ, L., ONDROVČÍK, P., RŮŽIČKA, F., DVOŘÁČKOVÁ, M., WOZNICOVÁ, V., ZAHRADNÍČEK, O.: Lékařská mikrobiologie speciální, Brno: NEPTUN, 2003
8. BARTŮŇKOVÁ, Jiřina, PAULÍK, Milan. Vyšetřovací metody v imunologii, 1.vyd. Praha: Grada publishing, 2005. str 53-62, 91- 98
9. HUSA, Petr.: Virové hepatitidy, 1.vyd. Praha: Galén, 2005. str. 23-74
10. ORTHO HCV 3.0 ELISA Test Systém with Enhanced SAve, manuál soupravy k detekci anti-HCV protilátek, Ortho-Clinical Diagnostics, Inc., 2003, str. 3-11
11. DiaSorin, Instruction for Use, CD-ROM, 2007
12. Monolisa HBe Ag-Ab PLUS, manuál soupravy pro detekci HBe antigenu a anti-HBe protilátek, Bio – Rad, 2006, str. 5-13
13. Hepanostika HBsAg Uni-Form II, manuál soupravy pro detekci HBs antigenu, bioMérieux, 2006, str.40-46

14. Hepanostika HBsAg Uni-Form II Confirmatory, manuál soupravy pro konfirmační test k průkazu HBs antigenu, bioMérieux, 2006, str.1-8
15. IMMULITE 2000 Anti-HAV IgM, Manuál soupravy pro detekci anti-HAV IgM na analyzátoru IMMULITE 2000, Siemens, 2007, str. 2-6
16. HUSA, P., PLÍŠEK, S., ŠPERL, J., URBÁNEK, P., GALSKÝ, J., HŮLEK, P., KÜMPEL, P., NĚMEČEK, V., VOLFOVÁ, M.: Diagnostika a léčba chronické hepatitidy B (Doporučený postup České hepatologické společnosti a Společnosti infekčního lékařství České lékařské společnosti J. E. Purkyně). 2007  
Online: [http://www.ceska-hepatologie.cz/editor/genhtml.pl?loc=hepatologie&table=stand\\_postup\\_hepB](http://www.ceska-hepatologie.cz/editor/genhtml.pl?loc=hepatologie&table=stand_postup_hepB)
17. GALSKÝ, J., HUSA, P., URBÁNEK, P., KÜMPEL, P., NĚMEČEK, V., PLÍŠEK, S., ŠPERL, J., VOLFOVÁ, M.: Standardní diagnostický a terapeutický postup chronické infekce virem hepatitidy C (HCV), 2008  
Online: <http://www.ceska-hepatologie.cz/editor/genhtml.pl?loc=hepatologie&table=guidehepc1>
18. ZIMA, Tomáš: Laboratorní diagnostika, 1.vyd. Praha: Galén, 2002, str. 81-98
19. JIRSA, Milan. Biochemické vyšetřovací metody v hepatologii. 2000  
Online: <http://www1.lf1.cuni.cz/~kocna/biochem/text5.htm>
20. Roubalová, K. a kol., Doporučené metody ve virologické diagnostice, Acta hygienica, epidemiologica et microbiologica. č. 1., SZÚ, 2000