

NOI POSIBILITĂȚI DE DIAGNOSTIC
ÎN HEPATITA VIRALĂ C ACUTĂ

Victor PÂNTEA¹, Lilia COJUHARI¹,
Valentin CEBOTARESCU¹, Valentina SMEȘNOI²,
Lucia MORARU², Paulina JÂMBEI²

¹ USMF Nicolae Testemițanu

² IMSP Spitalul Clinic de Boli Infecțioase Toma Ciorbă

Summary

New possibilities for diagnosis in acute viral hepatitis C

Hepatitis C virus is a major public health problem. The study included 35 patients hospitalized with acute HCV in CHID "Toma Ciorba". The diagnosis was confirmed based on clinical, biochemical, presence of markers: IgM and antiHCV, antiHCVsum and viral markers and exclusion in HAV, HBD, HVD. In these patients were investigated anti-HCV range (anti-HCV antibodies to determine appropriate structural and nonstructural proteins) by ELISA.

Key words: acute viral hepatitis C, diagnosis.

Резюме

Новые возможности для диагностики острого вирусного гепатита С

Вирусный гепатит С является основной проблемой общественного здравоохранения. В исследование были включены 35 больных, госпитализированных с острым гепатитом С в РИКБ «Томы Чорбэ». Диагноз был подтвержден на основании клинических данных, биохимических исследований и маркеров: анти-HCV сум и анти-HCV IgM и исключения HAV, HBV, HVD. Был исследован диапазон анти-HCV (анти-HCV-антител для определения соответствующих структурных и неструктурных белков) с помощью ИФА.

Ключевые слова: острый вирусный гепатит С, диагноз.

Actualitatea temei

Hepatitis virală cu virusul C este o problemă majoră de sănătate publică. S-a constatat că la 80% din cei care au contractat virusul C, maladia evoluează în formă asimptomatică, nemanifestă. Genomul VHC include ARN, proteina C, proteinele E1, E2/NS1 (ale anvelopei sau structurale) și proteinele nestrukturale: NS2, NS3, NS4 și NS5. Gena C codează capsida, iar genele E1, E2 și NS1 – învelișul lipidic al virusului. NS2 secretă proteaza, NS3 – helicaza și proteaza, iar NS5 RNA – polimeraza, DNA dependentă. Proteinele NS2-NS5 au rol în replicarea virală [2].

La ora actuală diagnosticarea HVC acute este dificilă, dat fiind faptul că formele acute au o manifestare, de cele mai dese ori, sub-clinică și mai rar și simptomatică (Consensus SUA, 10-12 iunie 2002), unul dintre indicii timpurii fiind creșterea ALAT [1, 3, 5, 8, 9]. Virusul hepatic C este predispus la persistența îndelungată în organism, ceea ce determină o evoluție cronică și asimptomatică a infecției. Zang S. și Farci P. [4] presupun că motivul acestei persistențe este variabilitatea antigenetică a virusului, în urma căreia agentul patogen evită răspunsul imunității umorale. Mai avantajoase sunt modificările epitopilor, situate în proteinele structurale, core (E1 și E2) [7].

Examenul serologic evidențiază anticorpi specifici virali, care sunt capturați pe proteinele recombinante ale VHC. Seroconversia apare după 7-31 de săptămâni de la infectarea prin transfuzii de sânge („fereastra imunologică”) sau la a 20-150-a zi (în medie a 50-a zi), anticorpii fiind depistați prin teste ELISA (*enzyme linked immunosorbent assay*).

Pentru monitorizarea anticorpilor anti-VHC, este necesară cunoașterea capacității imunogene a antigenelor virale. Imunogenitatea este dominată la gp 70 (produsă de E2/NS1), folosită pentru genotiparea VHC, sau este nespecifică pentru NS5 (polimeraza), gp 31(E1) și NS2.

Pentru diagnosticul formelor asimptomatice este necesară evidențierea anticorpilor față de antigenii: core (anti-HCV core IgM și IgG), nestrukturali (anti-HCV NS3, NS4, NS5) și de înveliș (anti-HCV envelope) [6].

Se consideră că mai întâi se evidențiază anticorpi față de antigenii core și NS2-NS3, anti-VHC față de antigenul NS4; în formele acute nu se detectează. Pentru evitarea unor rezultate fals-pozitive (după administrarea de sânge, care conține anticorpi anti-HCV) se efectuează testul de confirmare RIBA de generația III, cu antigeni recombinanți NS3, C100 și NS5.

Până în prezent, în Republica Moldova n-au fost efectuate studii în scopul evidențierii anti-HCV față de antigenii recombinanți (proteinele structurale și nestrukturale). În studiul actual noi ne-am propus să efectuăm investigațiile menționate în scopul diagnosticării timpurii și prognosticului acestei maladii.

Materiale și metode

Studiul a cuprins în total 35 de bolnavi cu HVC acută, internați în IMSP SCBI Toma Ciorbă. Diagnosticul a fost confirmat în baza datelor

clinice, biochimice (bilirubina, AIAT, proba cu timol, protrombina etc.), investigate prin metode de rutină; prezența markerilor: anti-HCVsum. și anti-HCV IgM și excluderea markerilor virali la HVA, HVB, HVD. Markerii virali au fost decelați prin metoda imunoenzimatică (ELISA). La acești pacienți s-a investigat spectrul anti-HCV (determinarea anticorpilor anti-VHC corespunzători proteinelor structurale și nestructurale) prin metoda ELISA.

Rezultate și discuții

Pentru prima dată în Republica Moldova s-a determinat spectrul anti-HCV (anticorpi față de proteinele structurale și nestructurale) la pacienții cu HVC acută. S-au investigat 35 de bolnavi la spectrul anti-HCV, care confirma hepatita virală C acută și o excludea pe cea virală C cronică.

Spectrul anti-HCV la pacienții cu HVC acută la spitalizare și peste 6 luni de la externare a convalescenților

Spectrul anti-HCV	La spitalizare (n=35)			Peste 6 luni (n=35)		
	Nr.	Densit. optică	%	Nr.	Densit. optică	%
E1	0	0,0	0,0	0	0,0	0,0
E2(NS1)	26	1,448±0,10	74,2	18	1,559±0,18	51,4
NS2	28	1,422±0,09	80,0	24	1,541±0,15	68,6
NS3A	27	1,434±0,09	77,1	20	1,520±0,16	57,1
NS3B	22	1,423±0,11	62,8	12	1,795±0,23	34,3
NS4A	4	1,057±0,14	11,4	8	1,266±0,27	22,8
NS4B	4	0,784±0,12	11,4	8	1,172±0,25	22,8
NS5	0	0,0	0,0	5	0,815±0,16	14,3

Din tabel reiese că în primele 2 săptămâni de boală (la spitalizare), la 80,0% din pacienții investigați la spectrul anti-HCV față de proteinele structurale și nestructurale (preponderent anti-NS1-NS3B), se confirma hepatita virală C acută, iar peste 6 luni au apărut anticorpi în secvențele anti-NS4A-NS5 și a crescut titrul în secvențele NS1-NS3B, ceea ce semnifică o evoluție spre cronicizare și confirmă datele din literatură că primii anticorpi apar în secvențele NS1-NS3B, iar în NS4A-NS5 mai târziu. Tot acești pacienți au fost investigați la anti-HVC IgM, dintre care pozitiv a fost la 20(57,1%), de 1,4 ori mai rar față de spectrul anti-HCV. Anti-NS3A+B poate apărea de unul singur în infecția acută cu VHC. La pacienții la care procesul infecțios a avut o evoluție favorabilă spre vindecare anti-NS4A+B și anti-NS5 nu s-a format, iar titrul anti-NS1-NS3B a fost în descreștere sau a lipsit. Anti-NS3A+B poate apărea de unul singur în infecția acută cu VHC. Prezența anticorpilor în regiunea NS4A+B în titre mai mari peste 6 luni de la externarea convalescenților, față de titrele de la debutul maladiei, semnifică formarea unui proces

cronic infecțios (vezi tabelul). Absența anti-NS5 la debutul maladiei și prezența lui după 6 luni de la externarea convalescenților semnifică un prognostic nefavorabil, o evoluție spre cronicizare.

La pacienții cu evoluție favorabilă densitatea optică în RIE s-a micșorat sau a rămas aceeași, iar la cei cu evoluție aciclică sau nefavorabilă densitatea optică a crescut în anti-NS4A (1,266±0,27) la 28,8% și a apărut în anti-NS5 (0,815±0,16) la 14,3% pacienți. Printre cei 8 (22,8%) convalescenți cu evoluție spre cronicizare, manifestări clinice au fost prezente la 3 (8,6%) bolnavi (slăbiciune generală, oboseală), la 5 (14,3%) – hepatomegalie și la 4 (11,4%) – splenomegalie moderată, iar activitatea ALAT era crescută până la 3,5±0,40 mmol/h/l. Cei 27 (77,2%) de convalescenți cu evoluție favorabilă, peste 6 luni de la externarea din clinică nu prezentau nici o manifestare clinică, iar ALAT era în limitele normale.

Prezentăm 2 exemple care ilustrează posibilitățile aplicării practice a criteriilor de diagnostic al HVC acute.

Exemplul 1. Bolnava S.V., 55 de ani, nr. fișei 1780/4942, internată la 23.04.2005, în a 7-a zi de boală, cu diagnosticul de hepatită virală acută. S-a îmbolnăvit acut, cu astenie fizică, dureri în regiunea epigastrică și hipocondrul drept, artralgiile. La 22.04.2005 a apărut urina hiper Cromă și scaun aholic. La 23.04.2005 a observat icterul sclerotegegmentar și s-a adresat la SRCS și a fost internată cu suspectie la colecistopancreatită acută. A fost investigat ALAT-590 (N-0-42 Un), proba cu timol (2,8 Un) și îndrumată la IMSP SCBI T. Ciorbă. În octombrie-noiembrie 2004 pacienta își tratează dinții, iar în luna martie 2005 primește multiple perfuzii intravenoase, injecții intramusculare. În momentul internării: starea generală – gravă, tegumentele icterice, afebrilă; datele sistemelor respirator și cardiovascular – în limitele normei. Abdomenul moale, dureros la palpare în regiunea proiecției vezicii biliare și regiunea epigastrică. Ficatul depășea rebordul costal cu 2-3 cm, sensibil la palpare. Splina –1 cm. La a 9-a zi de boală: bilirubina totală – 86,4 mkmol/l (directă – 67,2 mkmol/l), ALAT – 8,95 mmol/l/h, proba cu timol – 5,1 Un, indicele protrombinic – 80%. La a 18-a zi de boală icterul a crescut: bilirubina totală – 158,4 mkmol/l (directă – 112,8 mkmol/l), a apărut pruritul cutanat. Examenul serologic: anti-HCVsumar – negativ, anti-HCV IgM – negativ, PCR ARN-HCV – pozitiv (16.05.2005), HBsAg – negativ, anti-HBc sum. – negativ, anti-HBc IgM – negativ, anti-HAV IgM – negativ. În spectrul anti-HCV: E1 – negativ; E2(NS1) – pozitiv (0,680/0,310); NS2 – pozitiv (0,600/0,310); NS3A – pozitiv (1,20/0,320); NS3B – pozitiv (1,00/0,320); NS4A – negativ; NS4B – negativ; NS5 – negativ. În baza date-

lor clinice, epidemiologice și de laborator am stabilit diagnosticul: *hepatită virală C acută, forma icterică, gravă*. Tratamentul a inclus respectarea regimului dietetic, perfuzii i/v cu sol. NaCl 0,9%; sol. glucosae 5%, sol. hepasol A, vit. C 10%, riboxină 2%. Starea pacientei s-a ameliorat puțin. De pe 23.05.2005 i se administrează pegasys 180 mcg/săptămână și tab. copegus 600 mg X 2 ori/zi timp de 3 luni.

La externare starea pacientei era satisfăcătoare, hepatomegalie (+2 cm), bilirubina totală – 38,4 mkmol/l, ALAT – 2,18 mmol/l/h, proba cu timol – 4,4 Un. La examinarea ulterioară peste 3 luni de la externare: starea generală – satisfăcătoare, bilirubina totală – 19,2 mkmol/l, ALAT – 0,23 mmol/l/h, proba cu timol – 2,8 Un, PCR ARN-HCV – negativ. La examinare peste 6 luni după externare: starea generală – satisfăcătoare, ficatul la nivelul rebordului costal, bilirubina totală – 16,8 mkmol/l; ALAT – 0,35 mmol/h/l, proba cu timol – 4,8 Un, PCR ARN-VHC – negativ, anti-HCV sumar – suspect; anti-HCV IgM – negativ; spectrul anti-HCV: totul negativ. La examinare peste 1 an: starea generală – satisfăcătoare, ficatul și splina nu se palpează, bilirubina totală – 12,6 mkmol/l; ALAT – 0,28 mmol/h/l, proba cu timol – 2,6 U; ARN-VHC – negativ.

Exemplul 2. Pacientul T.S., 44 de ani, nr. fișei 531/1506, internat la 03.02.2005, în a 14-a zi de boală, cu diagnostic de hepatită virală C acută. S-a îmbolnăvit lent, cu astenie fizică, fatigabilitate, inapetență, tuse uscată, dureri în hipocondrul drept, prurit cutanat. Pe 1.02.05 a apărut urina hiper Cromă, pe 2.02.05 a observat icterul tegumentelor, a apărut pruritul cutanat. În luna decembrie s-a tratat în SCR nr. 1 cu d-cul *bronșită obstructivă*, unde a primit multiple injecții. Mama a decedat de ciroză hepatică, dar nu cunoaște etiologia. În momentul internării: starea generală – gravitate medie, tegumentele icterice, afebril. Din partea sistemului respirator – în plămâni se auscultă respirație aspră, raluri nu se aud. Sistemul cardiovascular – în limite normale. Abdomenul moale, sensibil la palpație în regiunea hipocondrului drept. Ficatul depășea rebordul costal cu +4-6 cm, semidur, sensibil, suprafața netedă. La a 15-a zi de boală: bilirubina totală – 100,8 mkmol/l, ALAT – 7,87 mmol/l/h, proba cu timol – 6,8 Un, indicele protrombincic – 84,2%. Examenul serologic: HBsAg – negativ, antiHCV sum. – pozitiv. Spectrul anti-HCV: E1 – negativ; E2 (NS1) – pozitiv (1,058/0,310); NS2 – pozitiv (1,00/0,310); NS3A – pozitiv (1,385/0,320); NS3B – pozitiv (1,200/0,320); NS4A – negativ; NS4B – negativ; NS5 – negativ. În baza datelor clinice, epidemiologice și de laborator s-a stabilit diagnosticul de: *hepatită virală C acută, forma icterică, semigravă*. Tratamentul administrat: sol. NaCl 0,9%, sol. Glucosae 5%, sol. riboxină 2%, revit, tab. ascorutină,

vitamine din grupul B. La externare: starea generală – satisfăcătoare, hepatomegalia – 3,5-4,0 cm, splina la nivelul rebordului costal, bilirubina totală – 36,0 mkmol/l, ALAT – 1,30 mmol/l/h. La 3 luni de la externare: starea generală – satisfăcătoare, ficatul depășea rebordul costal +3,0 cm, splina nu se palpa, ALAT – 1,50 mmol/l/h. Peste 6 luni de la externare: starea generală – satisfăcătoare, ficatul – +3,0 cm și splina +1 cm. ALAT – 2,18 mmol/l/h, proba cu timol – 6,0 un. PCR ARN-HCV – pozitiv; spectrul anti-HCV: E1 – negativ; E2(NS1) – pozitiv (2,020/0,260); NS2 – pozitiv (2,00/0,260); NS3A – pozitiv (2,628/0,270); NS3B – pozitiv (2,600/0,270); NS4A – pozitiv (2,266/0,280); NS4B – pozitiv (2,200/0,280); NS5 – pozitiv (0,879/0,290).

Concluzii

1. Evoluția favorabilă a HVC acute la pacienții supravegheați peste 6 luni de la externarea din clinică a fost confirmată prin absența ARN-VHC în serul sangvin la 75% și lipsa anticorpilor NS4A-NS5 la 77% din bolnavi.
2. La pacienta din exemplul 1 pronosticul a fost favorabil, cu evoluție spre vindecare, iar în exemplul 2 – pronostic nefavorabil cu evoluție spre cronicizare.
3. Determinarea spectrului anti-HCV și, în special, anti NS4 și anti-NS5 are importanță atât în diagnosticul hepatitei virale C, cât și pentru prognostic (evoluție spre cronicizare).

Bibliografie

1. Alter H.G., Mast E.E., Mayer L.A., et. al., *Hepatitis C*, Inf. Dis. Clin. North. Am., 1998; no. 12, p. 13-26
2. Cârstea D., Ciutică I. *Infecția cu virusuri hepatice. Modalități evolutive și posibilități terapeutice*. Cluj-Napoca, 2002, p.104-118.
3. Delic D., Nesic Z., Prostran M., Simonovic J., Svrtlih N. *Treatment of anicteric acute hepatitis C with peginterferon alpha-2a plus ribavirin*. Vojnosanit Pregl. 2005; no. 62(11), p. 865-868.
4. Farci P., Schimoda A., Coiana A. et al. *The outcome of acute hepatitis C predicted by evolution of the viral quasispecies*. Science, 2000; no. 288, p. 339-344.
5. Peters L., Lindhardt B.O., *Acute hepatitis C virus infection-clinical manifestations, diagnosis and treatment*. Ugeskr Laeger. 2006; no. 168(42), p. 3601-3604.
6. Welbourn S., Pause A. *The hepatitis C virus NS2/3 protease*. Curr Issues Biol., 2007; no. 9(1), p. 63-69.
7. Yuki N., Hayashi N., Moribe T. et al., *Relation of disease activity during chronic hepatitis C infection to complexity of hypervariable region 1 quasispecies*. Hepatology, 1997; no. 25, p. 439-446.
8. *Гепатит С: консенсус 2002. Вирусные гепатиты. Достижения и перспективы*. Информационный бюллетень №2(15), 2002, С. 3-11.
9. Лобзин Ю.В. *Гепатит С. Руководство по инфекционным болезням*, Санкт-Петербург, Фолиант, 2000, с. 337-340.