

Laboratorní diagnostika HBV a HCV

Vratislav Němeček
Státní zdravotní ústav

Rozdílná role sexuálního přenosu HBV a HCV

HBV

hlavní způsoby přenosu

- v endemických oblastech (Afrika, JV Asie) sexuální a vertikální, parenterální
- v Evropě, USA parenterální, sexuální

Vysoký výskyt HBV a velké množství HBV v genitálních tekutinách (>10⁵ kopií HBV DNA/ml)

HCV

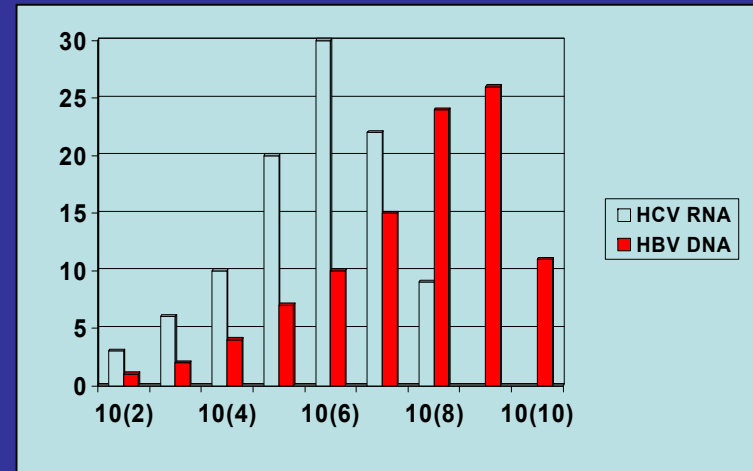
nižší účinnost přenosu než u HBV
hlavní způsob přenosu parenterální
riziko sexuálního přenosu

- dlouhodobě monogamní páry 0-0,6% /rok
- více sexuálních partnerů 0,4-1,8% /rok

v genitálních tekutinách nízký výskyt a malé množství viru (10² kopií HCV RNA/ml), souvislost s virovou náloží v krvi

HIV infekce zvyšuje riziko přenosu HCV

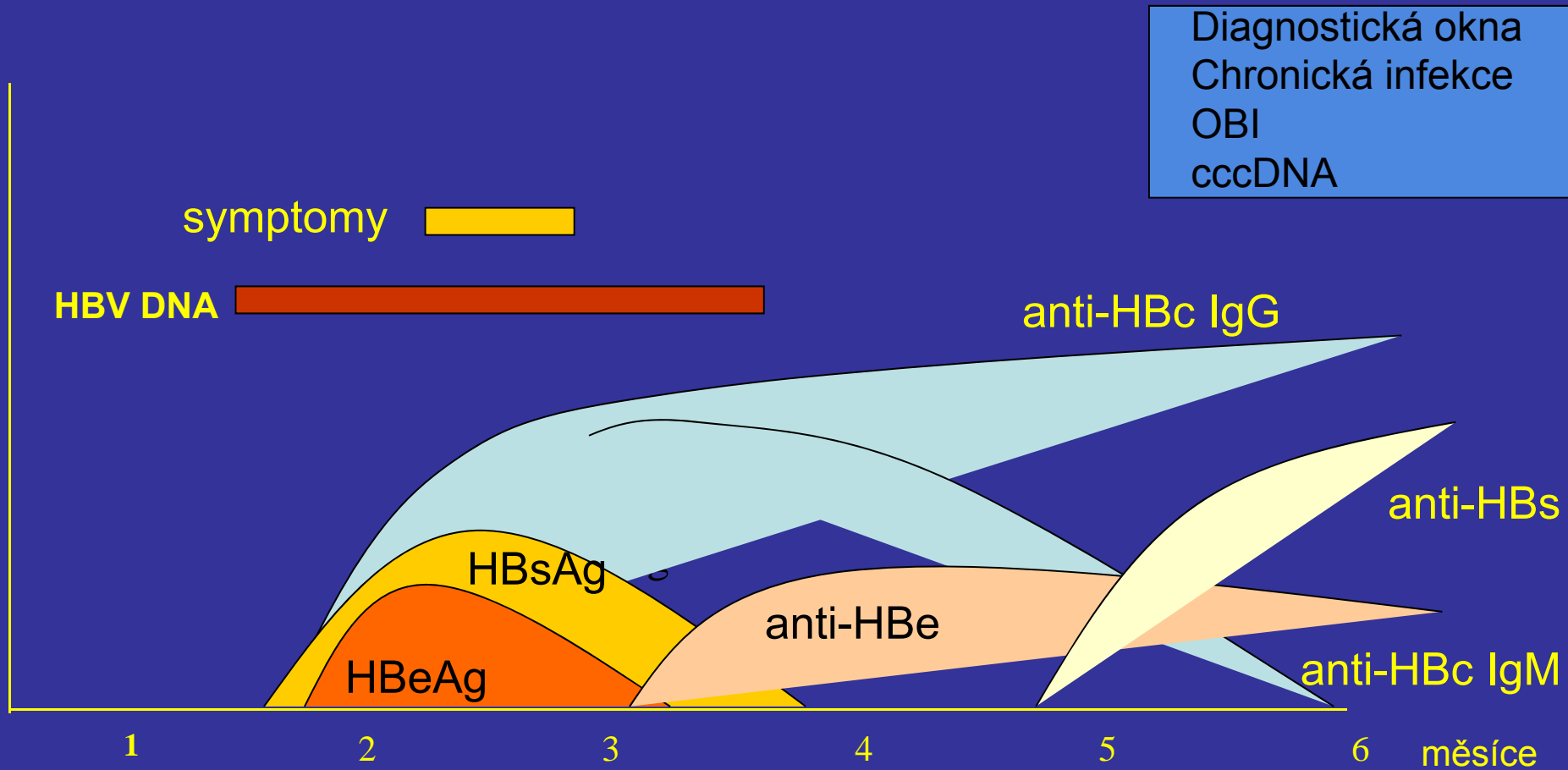
Rozdíly v četnosti virové nálože



Účely laboratorní diagnostiky HBV a HCV

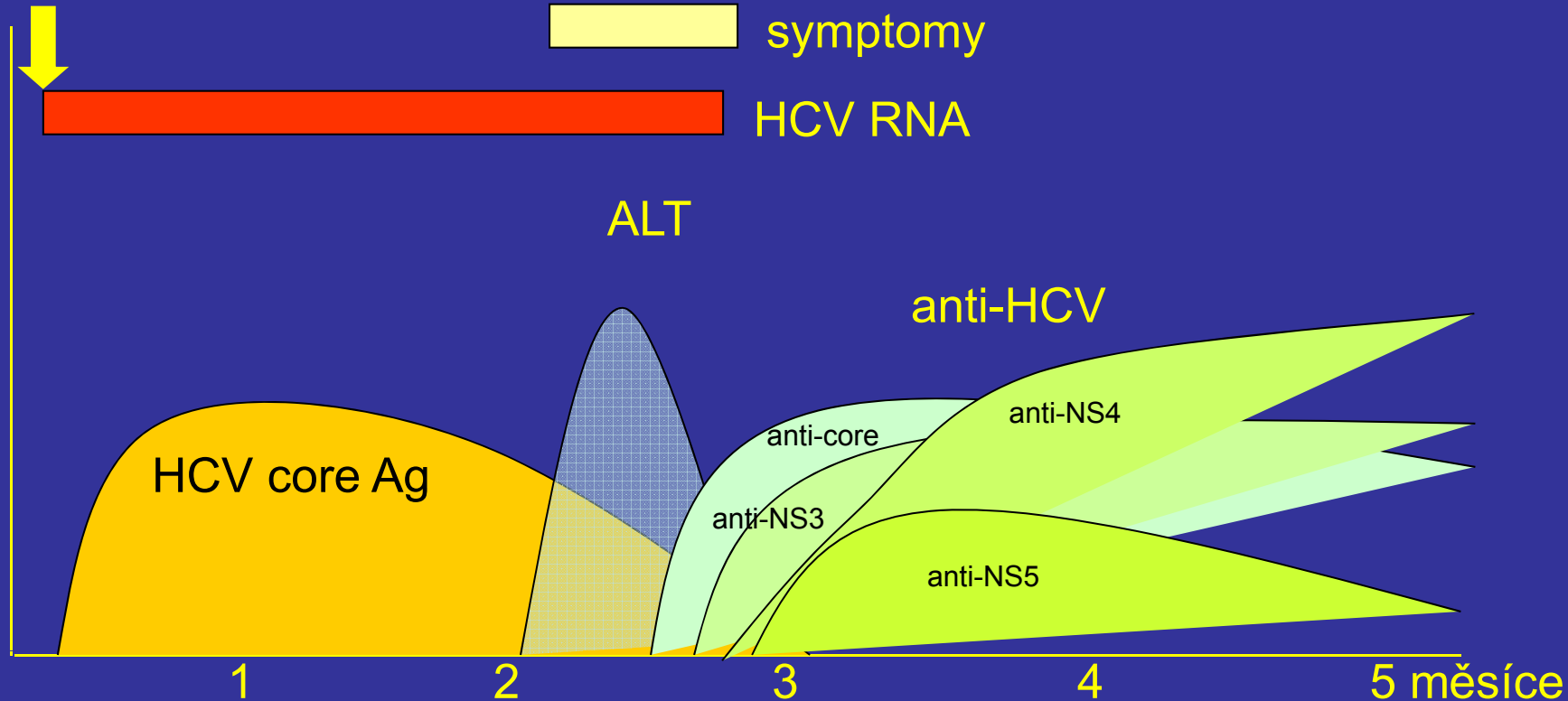
- skrínink
- diagnostika v klinické praxi
- monitorování průběhu infekce a léčby
- průkaz genotypů a detekce klinicky významných mutací
- testování specifické antivirové imunity

Dynamika serologických markerů u akutní VHB



Dynamika markerů akutní HCV

5-10 den



Skrínink

- dárci krve (HBsAg, anti-HCV)
- dárci buněk a tkání (HBsAg, anti-HBc, anti-HCV)
- těhotné ženy (HBsAg)

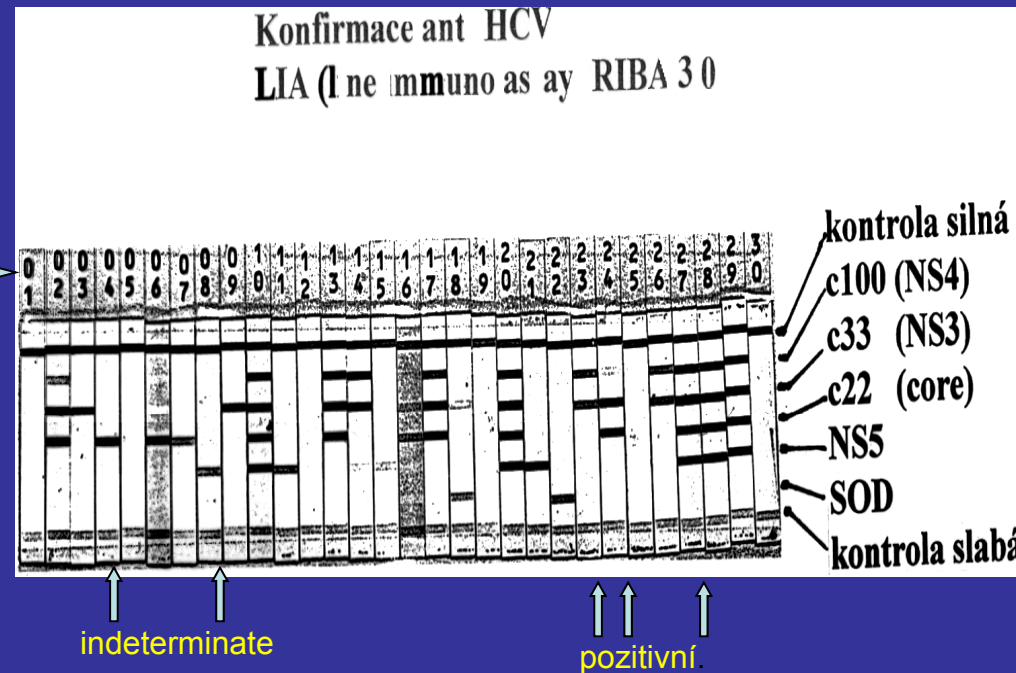
výsledek určuje následné akce, vysoké nároky na metodu
Konfirmace reaktivního výsledku vyšetření

HBsAg konfirmace neutralizací
specifickými protilátkami

anti-HCV imunoblot →

HCV core Ag nepřímo HCV RNA

anti-HBc vyšetření jiným EIA
(smyslem screeningu anti-HBc je
zachytit okultní HBV infekce (OBI),
u kterých je HBsAg negativní,
ale replikuje se virus)

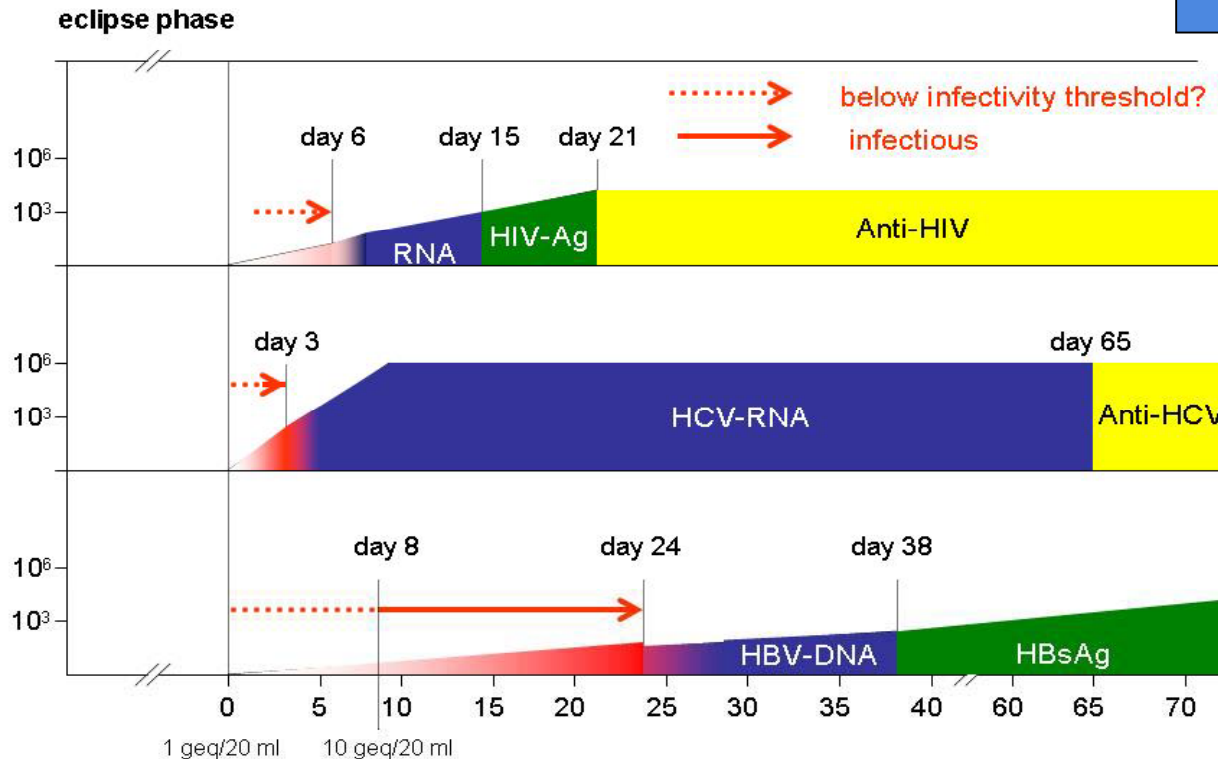


anti-HCV v běžné populaci
frekvence falešně reaktivních nálezů 0,3%
prevalence specifických nálezů 0,2%

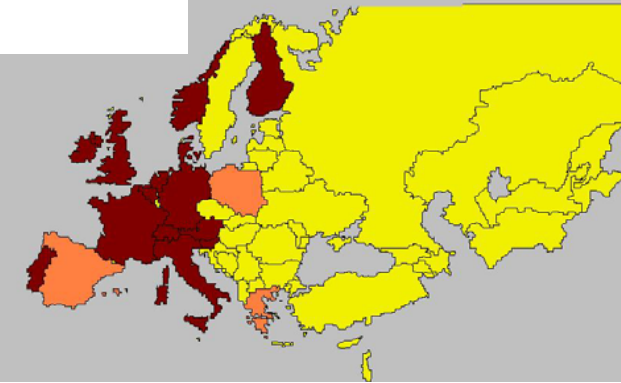
Zlepšení screeningu ve fázi „diagnostického okna“

Zkrácení diagnostického okna při užití individuálního NAT
(Ultrio na Procleix Tigris Systemu, Chiron, Novartis)

NAT-testování virové
nukleové kyseliny



Zkrácení diagnostického okna
u HIV a HCV lze dosáhnout
pomocí stanovení virového antigenu
(kombinovaný test pro Ag/Ab)



Diagnostika HBV a HCV infekcí v klinické praxi

diagnostika je založena na sérologických testech

HBV (HBsAg, anti-HBc IgM, anti-HBc celkové (IgG), HBeAg, anti-HBe, anti-HBs), konfirmace HBsAg v nepřítomnosti dalších markerů HBV, jen s HBe apod.

anti-HBc IgM marker akutní VHB (hlášení, ECDC)

HBV DNA má diagnosticky limitovaný význam (doplňkové vyšetření, OBI)

HCV anti-HCV (konfirmace doporučena, hlavně u asymptomatických forem a slabě reaktivních nálezů)

HCV RNA časnější záchyt akutní infekce, u kontaktů, IDU, dřívější záchyt HCV infekce u novorozenců HCV pozitivních matek, monitorování pacientů hemodialýz, zdravotníků a osob po poranění s rizikem krevního přenosu HCV,

odlišení anamnestických Ab po dříve prožité nechronizující infekci, lepší záchyt infekce u pacientů imunosuprimovaných a pod.

HCV core Ag alternativa ke stanovení HCV RNA

kombinovaný test Ag/Ab (zvyšuje záchytnost HCV infekce)

Monitorování průběhu infekce a efektu léčby

doporučení EASL a České hepatologické společnosti

<http://www.ceska-hepatologie.cz/guidelines.cz>

Cílem léčby chronické VHB a VHC je dosažení setrvalé virologické odpovědi (SVR), zastavení nebo omezení virové replikace (IFN, antivirotika)

stanovení virové nálože

kvantitativní test, (I.U. NK/ml, kopie/ml),

široký měrný rozsah,

citlivost

(limit 50 I.U. HCV RNA/ml pro SVR)

monitorování poklesu NK

HBV - limit virové nálože pro zahájení léčby $>10^5$ kopií/ml

HCV - není limit pro zahájení léčby

core Ag HCV kvantitativní i v přítomnosti Ab

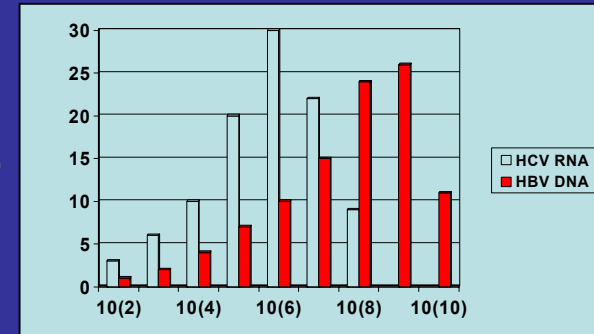
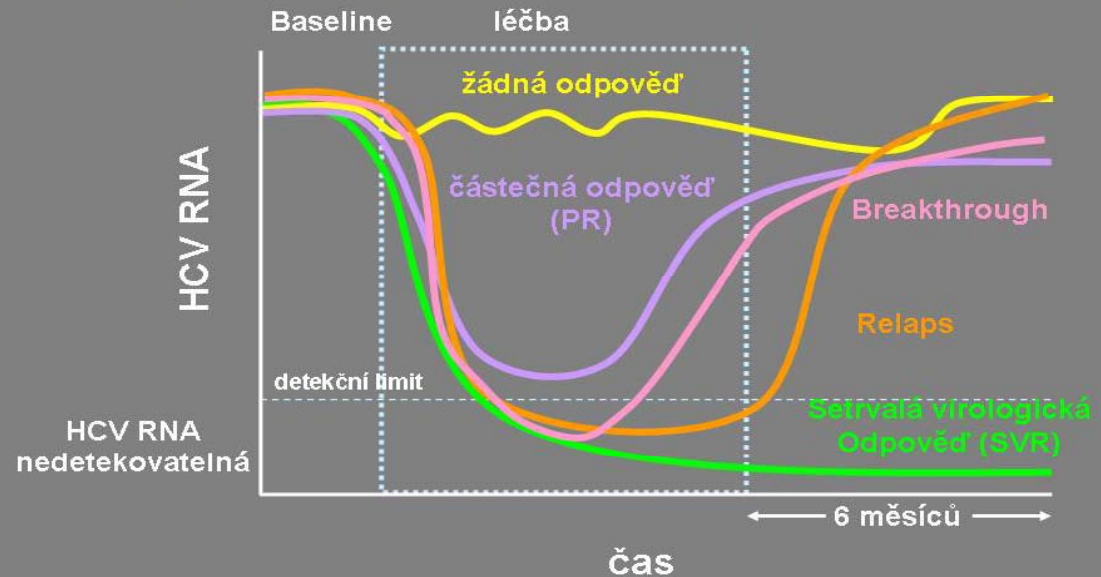


Schéma možných virologických odpovědí po léčbě interferonem alfa

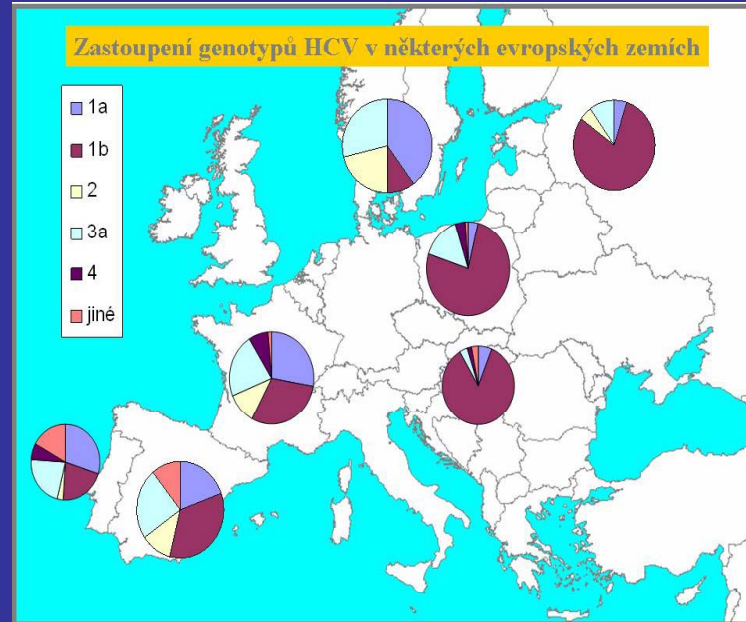
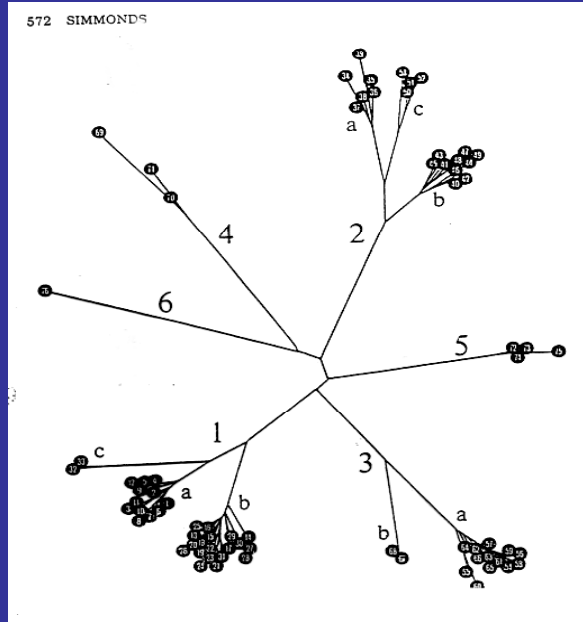


Průkaz genotypů a detekce klinicky významných mutací HCV

Genotypy HCV

(1-6, subtypy a,b,c...)

Prognostický význam
určení genotypů pro
terapii (genotyp 1 má
horší prognózu než
genotyp 2 a 3), jiné
léčebné schéma



Metody:

reverzní
hybridizace,
sekvenace NK

Epidemiologie:

vliv IDU

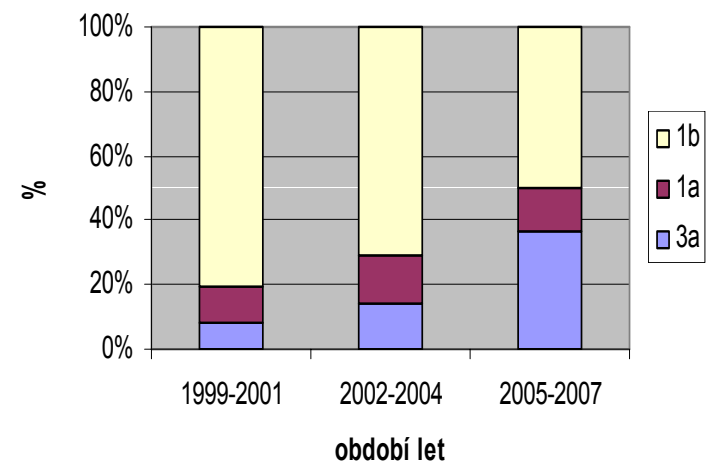
Mutace:

netestují se

Zastoupení genotypů HCV u IDU: srovnání s historickou kontrolou
Krekulová a spol, 2009

Genotypy	1998-2000	2005-2007	tendence
1a	14 (27,0 %)	90 (40,5 %)	nárůst 1a
1b	34 (65,0 %)	78 (35,0 %)	pokles 1b
2	1 (2,0 %)	0	
2a	0	1 (0,5 %)	
2b	0	1 (0,5 %)	
3	3 (6,0 %)	0	
3a	0	52 (23,5 %)	nárůst 3a
Celkem	52 (100 %)	222 (100 %)	

Zastoupení genotypů HCV u dárců krve



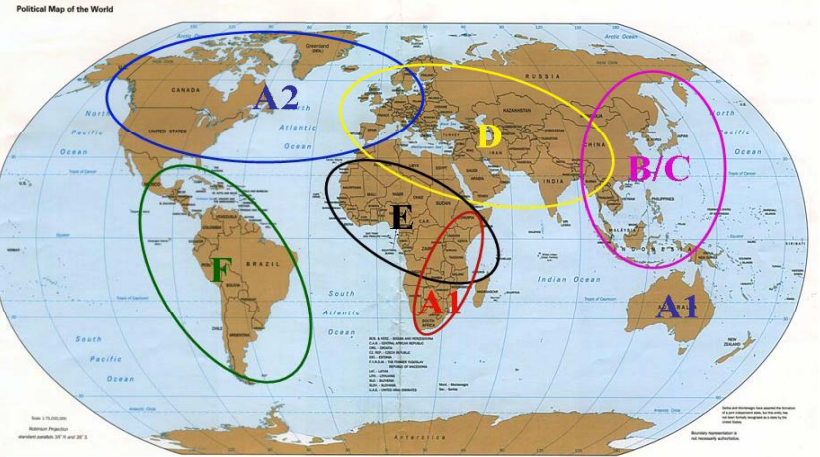
Genotypy a detekce klinicky významných mutací HBV

Genotypy HBV (A – H)

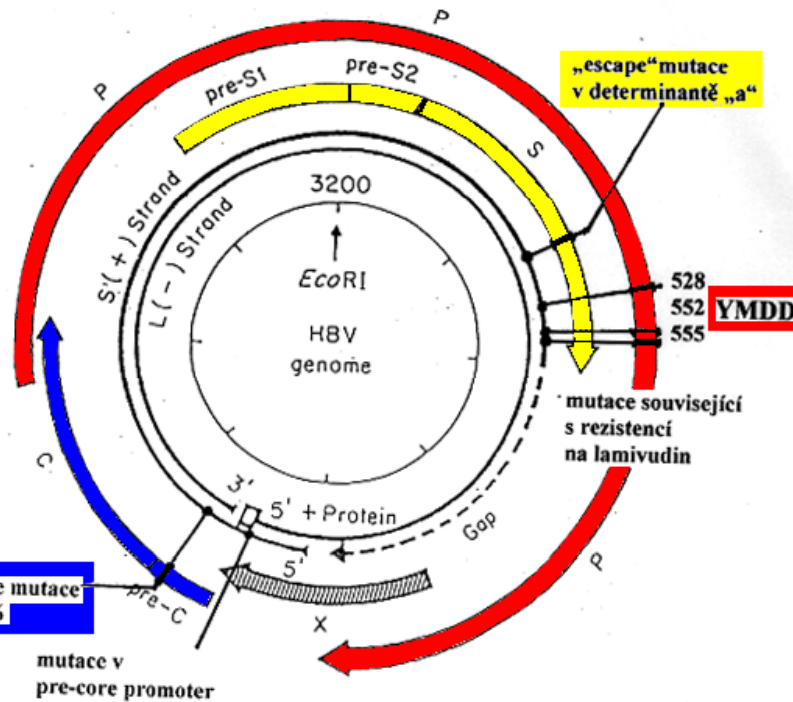
Epidemiologie

rozdíly klinické a terapeutické

Distribution of dominant HBV genotypes



Klinicky významné mutace HBV



mutace v HBsAg (únik z detekce nebo protilátkové imunity)

mutace v pre-core (ztráta tvorby HBeAg u chronické infekce)

mutace ve virové polymeráze (vede k rezistenci na antivirotika)

Testování specifické antivirové imunity

HBV

virus-neutralizační protilátky anti-HBs

WHO standardy, mezinárodní jednotky

minimální ochranné množství 10 I.U. anti-HBs/ml

kontrola poinfekční, povakcinační protilátkové imunity

Globální program vakcinace novorozenců

v ČR 1 a 12 letých dětí a rizikových skupin (novoroz. HBsAg+ matek, kontakty nosičů HBV, zdravotníci, pacienti hemodialýz ...)

HCV

není protektivní imunita

tvorba virus-neutralizačních protilátek slabá, možnost reinfekcí HCV, pasivní ani aktivní imunoprolaxe není