

K AKTUÁLNÍM PROBLÉMŮM SPECIFICKÉ DIAGNOSTIKY VIROVÉ HEPATITIDY B

Plk. MUDr. Ludvík KOSTRHUN, CSc., plk. MUDr. Miroslav VODÁK, CSc.,
ing. Marie ZICHOVÁ, CSc., pplk. MUDr. Vít NÁDVORNÍK
Infekční oddělení, Ústřední vojenská nemocnice, Praha
(náčelník: plk. MUDr. L. Kostrhun, CSc.)
Oddělení nukleární medicíny, Ústřední vojenská nemocnice, Praha
(náčelník: plk. MUDr. M. Vodák, CSc.)

Onemocnění hepatitidou B (HB) jeví dlouhodobě standardní incidenci a je stále i nejčastější příčinou profesionálních a nosokomiálních nákaz [4, 9]. Základní podmínkou kontroly a postupné eradikace HB je možnost spolehlivé, přesné a pohotové diagnostiky akutních forem i vleklých průběhů.

Vývoj specifické diagnostiky HB byl celosvětově velmi rychlý a přinesl komercializaci potřebného vybavení nejprve pro stanovení povrchového antigenu HB (HBsAg) a postupně i pro průkaz specifických protilátek proti jednotlivým subjednotkám vlastního viru (HBV). Jednoznačnou tendencí je aplikovat a využívat nejcitlivější a vysoce specifické reakce [9, 14, 15] tzv. 3. generace.

Priorita v ovládnutí specifické virologické diagnostiky v nemocničním komplexu ÚVN náleží pracovníkům virologického oddělení VÚHEM, kde pod vedením plk. MUDr. R. Bendy, CSc. byla v letech 1974–1980 rozpracována a osvojena technika průkazu HBsAg, elektron-mikroskopické (EM) vyšetřování sedimentů negativně barvených sér a EM průkaz virových nukleokapsidů (NK — HBV) v pozitivně barvených ultratenkých řezech necílených jaterních biopsií (NJB) [2, 5, 10].

Od r. 1978 byla postupně zavedena kompletní stanovení antigenních systémů HBV technikou radiosaturační analýzy (RIA, IRMA) na bázi komerčních souprav fy Abbott, ev. Sorin-Biomedica [14, 15], oddělením nukleární medicíny ÚVN.

Využitím uvedených vyšetřovacích metod pro rutinní praktickou aplikaci u vybraných případů akutních a chronických forem HB byly vytvořeny předpoklady pro komplexní vyšetřovací postup a objektivní kategorizaci nosičských stavů HBsAg [2, 7, 8, 11, 12, 13].

Metodika

Možnosti aplikace EM a RIA vyšetřovacích metod byly ověřeny na skupině 130 nemocných, kteří byli hospitalizováni nebo dispenzárně sledováni pro některou z forem HB nebo nosičský stav HBsAg na infekčním oddělení ÚVN. Do diagnostického programu bylo zařazeno:

- vyšetření negativně barveného séra EM se stanovením podílu Daneho částic (DČ), celkové četnosti a přítomnosti specifických imunokomplexů (IK),

- EM vyšetření ultratenkých řezů NJB na přítomnost NK HBV (současně i vyšetření 1/2 biotického materiálu optickým mikroskopem),
- kompletní stanovení antigen-protilátkových ukazatelů infekce HBV metodou RIA.

U 32 nemocných bylo provedeno EM vyšetření negativně barveného séra v různých časových odstupech od akutní fáze; EM znaky HB byly hodnoceny semikvantitativně a vztaženy k závěrečné klinické diagnóze.

U 14 nemocných byly výsledky EM negativně barveného séra porovnány se současně provedeným stanovením antigen-protilátkových ukazatelů infekce HBV metodou RIA. Výsledky získané dvěma různými metodickými přístupy byly porovnány se základní klinickou histopatologickou diagnózou a použity pro stanovení aktuální epidemiologické závažnosti nosičství HBsAg.

U skupiny 24 nemocných byla ověřena možnost časně diagnostiky akutní HB RIA stanovením anti-HBc IgM v 1.—4. týdnu klinické manifestace.

U 20 nemocných akutní HB byl sledován průběh sérokonverze a dynamika protilátkové odpovědi RIA stanovením v různých časových intervalech (až 379 dnů od akutní fáze).

U 40 nemocných sledovaných pro nosičství HBsAg nahodile zjištěné nebo perzistující po primoinfekci 6, 12, 24 měsíců i déle byl použit komplexní vyšetřovací postup zahrnující EM vyšetření séra, ultratenkého řezu NJB, klasickou histologii NJB, RIA stanovení HBeAg a scintigrafické vyšetření jater a sleziny po podání radiokoloidu STc99m.

Virologický materiál (krevní sérum a vzorky získané NJB) byl vyšetřován dvojí základní metodou:

- metodou negativního barvení ultracentrifugovaných sedimentů sér,
- metodou ultratenkých řezů.

Podrobný popis těchto metodik byl již dříve publikován [2, 7, 9, 13].

Jednotlivé antigen-protilátkové ukazatele infekce HBV byly stanoveny na bázi komerčních souprav fy Abbott (Ausria II 125, Ausab, Corab, Abbott HBe), příp. fy Sorin Biomedica (Core-K, Sorin HBK, Core-IgM-K). Vlastní technický postup a uspořádání RSA se řídil firemními návody. Výsledky byly vyjadřovány jako indexy pozitivitivity (IP) [14, 15].

Tab. 1

Č.	Věk, pohl.	Trvání nosič. HBsAg (roky)	EM serové znaky HBV			RIA (IP)					Diagnóza	
			DČ	čet-nost částic	IK	HBsAg	HBsAb	HBeAg	HBeAb	HBcAb celk.	klinická (NJB)	epide-miolog.
1.	49 r., ž.	5	++	+++	+	28,70	0,50	149,50	0,25	10,78	CAH	RN
2.	25 r., ž.	3	+++	++	—	40,15	0,64	82,70	0,40	66,30	CAH	RN
3.	40 r., m.	2	++	+	—	34,70	0,48	5,11	0,54	32,49	CPH	RN
4.	20 r., m.	1	—	++	—	28,50	0,46	0,34	7,48	30,62		AN
5.	20 r., m.	4	++	++	+	32,60	1,23	6,80	0,42	46,40	CAH	RN
6.	35 r., m.	4	+	++	—	42,86	0,39	0,58	113,16	36,68	CPH	NRN
7.	46 r., ž.	2	+	++	—	7,20	16,20	0,38	2,56	22,50		NRN
8.	28 r., m.	3	++	++	—	28,20	neg.	10,15	neg.	15,57	CAH	RN
9.	58 r., m.	9	++	+	++	44,25	0,54	5,65	0,40	65,30	CAH - CI	RN
10.	33 r., m.	2	++	++	+	38,80	0,39	86,62	0,56	61,20	CAH	RN
11.	28 r., m.	3	+	++	—	36,40	0,35	0,39	5,88	25,84		NRN
12.	36 r., ž.	6	—	+	—	36,15	0,30	0,31	8,60	14,20		AN
13.	46 r., m.	8	+	++	—	26,15	neg.	0,32	6,87	39,01	CPH	NRN
14.	44 r., m.	2	+	++	+	18,91	neg.	4,97	0,28	2,18 (IgM)	hepato-Ca	RN

Možnosti interpretace souběžně provedeného EM a RIA vyšetření u případů vleklého nosičství HBsAg (CAH = chronická aktivní hepatitida; CPH = chronická perzistující hepatitida; RN = rizikové nosičství HBV; AN = asymptomatické nosičství HBsAg; NRN = nízké rizikové nosičství vyžadující další upřesnění)

Tab. 2

Den od začátku onemocnění	ALT (ukat/l)	IP					
		HBsAg	HBsAb	HBeAg	HBeAb	HBcAb-IgM	HBcAb celk.
4.	19,60	71,80	0,34	1,03	20,34	0,66	16,9
11.	4,70	59,47	0,50	0,81	2,29	2,1	11,2
17.	3,06	62,03	0,45	0,81	1,93	1,83	11,1
24.	2,85	67,48	0,34	0,86	1,16	8,61	8,76
33.	3,0	71,31	0,44	0,63	3,09	1,86	9,33
40.	2,04	64,95	0,36	0,73	3,37	1,14	13,1
54.	1,02	8,65	0,46	0,44	6,79	0,92	30,66
80.	0,47	0,61	1,14	0,26	13,95	0,75	36,04
120.	0,29	0,47	1,99	0,35	5,91	0,49	27,03
379.	0,15	0,41	2,10	0,27	0,92	3,28	23,30

Časový průběh antigeni-protilátkových ukazatelů infekce HBV u akutní formy s příznivým průběhem, vymizením HBsAg a vznikem sterilní imunity
Pacientka C. L., nar. 1951, chor. č. 5341/167/86

Výsledky a zkušenosti

Klinické využití uvedených specifických vyšetřovacích metod HB bylo již předmětem předchozích sdělení [2, 7, 8, 11, 13]. Jako podstatné se jeví zejména, že:

EM negativně barveného séra provedená v intervalech 6, 12, 24 měsíců, příp. déle, umožňuje vcelku spolehlivý prognostický odhad podle proporce DČ ve dvou, ev. tří stanovení v časovém odstupu. Pro nejistou prognózu

svědčí trvalí vyšší přítomnost DČ, vázaných na přítomnost specifických IK. Pozitivní znak DČ znamená i aktuální infekci zítu nemocného [2, 7, 11].

Souběžně provedené EM a RIA vyšetření (tabulka 1) ukazuje, že pozitivní znak DČ vcelku dobře koreluje s pozitivním HBeAg. Nemocní s vyšší proporcí DČ, přítomností IK a pozitivním HBeAg mívají závažnější chronickou hepatitidu, významně sdruženou s epidemiologicky závažným nosičstvím HBsAg [9].

Tab. 3

Den od začátku onemocnění	ALT (ukat/l)	IP					
		HBsAg	HBsAb	HBeAg	HBeAb	HBcAb-IgM	HBcAb celk.
40.	—	36,46	0,67	5,42	0,56	—	54,86
50.	0,22	+	—	—	—	1,18	—
60.	2,13	57,8	1,46	5,01	0,50	—	48,49
540.	1,81	25,3	0,78	132,6	0,29	—	14,7
690.	1,39	60,13	0,57	107,4	0,30	—	54,7
840.	1,68	22,28	0,55	166,02	0,27	1,22	55,34
1020.	1,08	40,1	0,55	76,5	0,24	1,39	28,2
1110.	2,63	57,25	0,46	71,09	0,31	1,27	35,94

Sledování časového průběhu antigen-protilátkových ukazatelů chronické infekce HB
Pacientka P. M., nar. 1939, chor. č. 2111/59/87. Klin. dg.: chronická aktivní hepatitida; HBsAg pozitivní

Časná diagnóza akutní HB je možná mimo stanovení HBsAg značně spolehlivějším průkazem anti-HBc IgM. Rozdíl průměrných IP u akutní HB ve srovnání s IP anti-HBc IgM u chronických hepatopatií se jeví jako významný ($p < 0,01$) [15].

Možnost sledování časového průběhu sérokonverze HBsAg/anti-HBs, HBeAg/anti-HBe a dynamika anti-HBc s určením imunologické třídy jsou nejpodstatnějším přínosem specifické diagnostiky HB. Umožní stanovení klinické fáze onemocnění, posouzení imunoreaktivity i okamžité epidemiologické závažnosti (tabulka 2, 3).

Přesnější kategorizaci nosičských stavů HBsAg umožní stanovení znaků produktivní virové replikace (HBeAg, DČ, nález NK HBV v jádrech hepatocytů). Dlouhodobí nosiči HBsAg mívají významně častěji závažnější chronickou hepatopatii [8, 9, 11].

Diskuse

Pozitivita HBsAg je všeobecně interpretována jako indikátor ohrožení organismu manifestní nebo latentní formou HB, jako ukazatel možného zdroje šíření HB nebo jako doprovodný prognosticky nepříznivý znak chronické hepatopatie [4, 6, 9, 13]. Stupeň tohoto rizika nelze stanovit pohotově a často ani dostatečně přesně [9, 12]. Podle zkušeností vlastních i cizích [4, 6, 11, 13] je zřejmá závislost klinických důsledků nosičství HBsAg na délce jeho perzistence, věku nemocného a současné přítomnosti jiné interní choroby. Běžná diagnostická praxe nosičských stavů, založená na obvyklé biochemické analýze, umožní sice rozpoznání akutní HB i jejího event. přechodu do chronicity; nemůže však blíže specifikovat epidemiologickou závažnost nosičského stavu pro okolí [4, 6, 9]. Jen využitím specifických vyšetřovacích metod HB je možná kategorizace nosičství na asymptomatické (AN) — převážně nerizikové (příp. níže rizikové — NRN) a symptomatické — ri-

zikové (RN). Tato objektivní kategorizace je významná pro racionální protiepidemická opatření a může v budoucnu sloužit i pro účelnou indikaci imunofarmak v terapii vleklé HB [4, 9].

Souhrn

Práce stručně informuje o metodách specifické diagnostiky virové hepatitidy B, které byly postupně osvojeny a zavedeny v nemocničním komplexu ÚVN. U 130 nemocných s akutní nebo chronickou formou hepatitidy B bylo mimo obvyklé vyšetřovací metody využito výsledků elektronmikroskopického průkazu viru HB v negativně barveném séru a v ultratenkém řezu necílené jaterní biopsie. Nejpodstatnějším přínosem se ukázalo kompletní stanovení antigen-protilátkových ukazatelů viru hepatitidy B metodou RIA.

Porovnání výsledků těchto specializovaných vyšetření umožní podstatné zpřesnění klinicko-epidemiologických diagnostických závěrů, zejména u stavů vleklého nosičství HBsAg sdružených s chronickou hepatopatií.

Literatura

1. BENDA, R. - MACHOVÁ, M. - VANČURÍK, J. et al.: Zpráva o vyšetřování na antigen hepatitidy B (HBsAg) v roce 1976 — souhrnné zkušenosti od roku 1973. Voj. zdrav. Listy, 46, 1977, č. 4, s. 154—161.
2. BENDA, R. - JELÍNKOVÁ, A. - NOVÁK, M. et al.: Diagnostika hepatitidy typu B elektronově mikroskopickým průkazem sérového korpuskulárního antigenu a jeho imunokomplexů. Čas. Lék. čes., 116, 1977, č. 48, s. 1483—1489.
3. BENDA, R. et al.: Poznatky a zkušenosti ze studia virových zánětů jater. Voj. zdrav. Listy, 53, 1984, č. 1, s. 18—24.
4. HELCL, J. - HAZUKA, V. - PEČENKOVÁ, I.: Virové hepatitidy. Praha, Avicenum 1986. 136 s.
5. JELÍNKOVÁ, A. - NOVÁK, M. - HELM, R. et al.: Morfologie antigenu hepatitidy B a jeho imunokomplexů. Voj. zdrav. Listy, 47, 1978, č. 6, s. 262—265.
6. KOPECKÁ, D.: Virové hepatitidy. Prakt. Lék. (Praha), 64, 1984, č. 17, s. 621—666.

7. KOSTRHUN, L. - JELÍNKOVÁ, A. - HELM, R.: Klinické zkušenosti s vyšetřením nosičů HBsAg pomocí IEM. In: Sborník konference čs. virologů, Praha, 8.—10. září 1981.
8. KOSTRHUN, L. - SEICHERTOVÁ, A.: Poznatky z komplexního vyšetřování nosičských stavů virů hepatitidy B u mladých jedinců. Voj. zdrav. Listy, 55, 1986, č. 5, s. 209—214.
9. KOSTRHUN, L.: Hepatitis B a její nosičství. [Kandidátská disertace]. Praha 1986. — Univerzita Karlova. — Lékařská fakulta hygienická.
10. NOVÁK, M. - BENDA, R. - JELÍNKOVÁ, A.: Metodická problematika elektronově mikroskopického průkazu antigenu hepatitidy B a imunních komplexů s protilátkami k jeho povrchové složce. Voj. zdrav. Listy, 47, 1978, č. 1, s. 31—38.
11. PULTAR, J. - ŠPRINCL, L. - VODÁK, M.: Nosičství HBsAg a jaterní léze. Voj. zdrav. Listy, 53, 1984, č. 2, s. 63—66.
12. STRÁNSKÝ, J. - HÁŠA, J. - POLOMIS, V.: Klinický význam pozitivního australského antigenu u vleklých hepatopatií. Voj. zdrav. Listy, 46, 1977, č. 2, s. 55—61.
13. STRÁNSKÝ, J. - SEICHERTOVÁ, A. - BENDA, R. et al.: Klinická, biochemická, sérologická, histologická a elektronmikroskopická diagnostika vleklé hepatitidy B. Vnitřní lékařství, 30, 1984, č. 5, s. 441—451.
14. VODÁK, M.: Časná serologická diagnostika virové hepatitidy A radiosaturační analýzou. [Kandidátská disertace.] Praha, 1985. Univerzita Karlova. — Lékařská fakulta hygienická.
15. ZICHOVÁ, M. - VODÁK, M. - KOSTRHUN, L. et al.: Stanovení specifických protilátek proti „core“ antigenu viru hepatitidy B třídy IgM u akutní a chronické hepatitidy B radiosaturační analýzou. Čas. Lék. čes., 125, 1986, č. 52, s. 1604—1607.

Klíčová slova: Virová hepatitida B; Specifická diagnostika.