

Διεκτές Ιογενών Ηπατιτίδων

Παρασκευάς Εμμανουήλ
Επίκουρος Καθηγητής
Διευθυντής Γαστρεντερολογικού Τμήματος

Δημητρουλόπουλος Δημήτρης
Ειδικευόμενος Γαστρεντερολογικού Τμήματος

Εισαγωγή

Λόγω του ότι η κλινική, εργαστηριακή και ιστολογική εικόνα των ιογενών ηπατιτίδων παρουσιάζουν πολλές ομοιότητες, η αιτιολογική τους διάγνωση με βάση τα ως άνω είναι αδύνατη και για να τεθεί απαιτούνται ορολογικές εξετάσεις (δείκτες ηπατίτιδας). Ο προσδιορισμός της αιτιολογίας της ιογενούς ηπατίτιδας είναι απαραίτητος για τον καθορισμό της πρόγνωσης, για το σχεδιασμό της θεραπευτικής αντιμετώπισης και για τον προγραμματισμό της προφύλαξης των ατόμων του περιβάλλοντος του ασθενούς^(1,2).

Ηπατίτιδα Α

Ο ιός της ηπατίτιδας Α (HAV) είναι RNA πικαρναϊός, διαμέτρου 27 nm, 7.478 νουκλεοτιδίων, ο οποίος περιέχει 4 δομικά πολυπεπτίδια (VP1-VP4) που σχηματίζουν το πυρηνοκαψίδιο⁽³⁾. Στις αρχές της δεκαετίας του '70 με τη βοήθεια ηλεκτρονικού μικροσκοπίου ανιχνεύθηκαν για πρώτη φορά σωματίδια του HAV στα κόπρανα μολυσμένων ασθενών. Έως τις μέρες μας έχει προσδιορισθεί μόνο ένας ορότυπος του HAV που μεταδίδεται δια της εντερικής οδού και προκαλεί μόνον οξεία λοίμωξη. Παλαιότερα η ηπατίτιδα Α ήταν νόσος κυρίως των παιδιών και των εφήβων. Σήμερα όμως, λόγω βελτίωσης των υγιεινοδιαιτητικών συνθηκών, μεγάλες πληθυσμιακές ομάδες φθάνουν στην ενηλικίωση χωρίς να έχουν έλθει σε επαφή με τον ιό, με αποτέλεσμα να είναι ευάλωτες στην εμφάνιση της νόσου σε μεγαλύτερες ηλικίες⁽⁴⁾.

Η διάγνωση της ηπατίτιδας Α γίνεται με αναζήτηση ειδικού αντισώματος IgM έναντι του ιού (αντι-HAV IgM), με ραδιοανοσομετρική (RIA) ή ανοσοενζυματική μέθοδο (ELISA). Το αντι-HAV IgM παρουσιάζεται νωρίς, πριν την εκδήλωση ικτέρου και δυνατόν να ανιχνεύεται έως και μετά 12 μήνες (συνήθως 3-6 μήνες).

Στο εμπόριο διατίθενται ορολογικές μέθοδοι (ELISA και RIA) προσδιορισμού ολικών αντι-HAV αντισωμάτων, κλάσεως IgG και IgM. Σε οξεία ηπατίτιδα Α, αυτά συνυπάρχουν πάντοτε με θετικό αντι-HAV IgM. Η ανίχνευση ολικών αντι-HAV χωρίς αντι-HAV IgM κάνει λόγο για παλαιά ηπατίτιδα Α που έχει ιαθεί και ανοσία σε πιθανή επαναμόλυνση.

Ο εμβολιασμός έναντι του ιού της ηπατίτιδας Α, προκαλεί αρχικά υψηλούς τίτλους αντι-HAV IgM και αργότερα ολικού αντι-HAV, σε επίπεδα που παρατηρούνται μετά από φυσική λοίμωξη.

Ο προσδιορισμός των ολικών αντι-HAV αντισωμάτων, γίνεται για επιδημιολογικές μελέτες αλλά και πριν τον εμβολιασμό. Η παρουσία στον ορό ρευματοειδούς παράγοντα ή υπεργαμμασφαιριναιμίας, δυνατό να οδηγήσει σε ψευδώς θετικά αποτελέσματα. Η χορήγηση γ-σφαιρίνης οδηγεί στην ανίχνευση ολικών αντι-HAV, σε χαμηλό τίτλο, για μερικές εβδομάδες⁽⁵⁾.

Ηπατίτιδα Β

Ο ιός της ηπατίτιδας Β (HBV), είναι ένας μικρός DNA ιός διαμέτρου 42nm. Αποτελείται από έλυτρο (περίβλημα) και νουκλεοκαψίδιο. Το περίβλημα περιέχει το επιφανειακό αντιγόνο της ηπατίτιδας (HBsAg) και τις πρωτεΐνες προ-S1 και προ-S2. Το πυρηνικό καψίδιο αποτελείται από το DNA του ιού, την ιική πολυμεράση και την πυρηνική πρωτεΐνη με τους αντιγονικούς επιτόπους του HBcAg⁽⁷⁾. Κατά τη φάση του ιικού πολλαπλασιασμού, παράγεται η πρωτεΐνη e με τον επίτοπο HBbeAg που εκκρίνεται στον ορό.

Στο αίμα ασθενών με τη βοήθεια ηλεκτρονικού μικροσκοπίου έχουν γίνει ορατά σωματίδια του ιού (σωματίδιο του Dane) καθώς και σωληνίσκοι και σφαίρες που είναι κενές διότι αποτελούνται μόνο από πρωτεΐνες του περιβλήματος που παράγονται σε περίσσεια. Σε κάθε ακέραιο σωματίδιο του Dane αντιστοιχούν εκατοντάδες κενά σωματίδια ή σωληνίσκοι. Οι πρωτεΐνες - προϊόντα μετάφρασης του ιού και τα αντισώματα έναντι αυτών χρησιμοποιούνται στις ορολογικές δοκιμασίες διάγνωσης της οξείας και χρόνιας HBV λοίμωξης⁽⁸⁾.

Το αντιγόνο επιφανείας του HBV (HBsAg) εμφανίζεται στον ορό προ της ενάρξεως της κλινικής συμπτωματολογίας της οξείας HBV λοίμωξης και αγγίζει τη μέγιστη συγκέντρωση του κατά το χρονικό διάστημα της ενάρξεως των συμπτωμάτων.

Το HBsAg ανιχνεύεται κατά κανόνα σ' όλη τη διάρκεια της κλινικής νόσησης για να εξαφανιστεί στη φάση ανάρρωσης. Εάν η νόσος εξελιχθεί άνευ επιπλοκών, το HBsAg εξαφανίζεται στον ορό περίπου εντός διμήνου. Εάν όμως παραμένει και μεταπίπτει σε χρονιότητα. Παρόλα αυτά, η πορεία εξαφάνισης του HBsAg ποικίλλει. Σ' ένα 10% περίπου των ασθενών το HBsAg εξαφανίζεται εντός της πρώτης εβδομάδος από την έναρξη των συμπτωμάτων. Στους ασθενείς αυτούς η διάγνωση τίθεται με την ανίχνευση του αντι-HBc IgM. Επειδή όμως το HBsAg ανιχνεύεται και στους πάσχοντες από χρόνια HBV λοίμωξη, η εν λόγω ορολογική εξέταση δεν δύναται να μας παρέχει την πληροφορία αν το άτομο πάσχει από οξεία ή χρόνια ηπατίτιδα τύπου Β.

Πλήρης απουσία του HBsAg απ' τον ορό, δεν αποκλείει την ηπατίτιδα Β αφού μπορεί να κυκλοφορεί στον ορό σε τίτλους μικρότερους απ' την ευαισθησία της ορολογικής μεθόδου, μπορεί να κρύβεται σε ανοσοσυμπλέγματα, μπορεί να εκφράζεται και να μην εκκρίνεται και τέλος μπορεί και να μην εκφράζεται καθόλου λόγω μεταλλαγής στην περιοχή του φακέλου του γονιδιώματος⁽⁹⁾.

Το αντιγόνο e (HBeAg) είναι έκφραση της πρωτεΐνης του πυρηνοκαψιδίου του ιού, που εκκρίνεται και προσδιορίζεται με RIA και ELISA μεθόδους. Συνοδεύεται από θετικό HBsAg και υψηλούς τίτλους ιαιμίας και εκφράζει ενεργό ιικό πολλαπλασιασμό και υψηλή μεταδοτικότητα. Στην οξεία ηπατίτιδα Β το HBeAg ανιχνεύεται για διάστημα λίγων ημερών έως λίγων εβδομάδων και εξαφανίζεται απ' τον ορό πριν το HBsAg.

Η χρόνια HBV λοίμωξη δυνατόν να παρουσιάζει

σημαντικό τίτλο ιαιμίας και ενεργό ιστολογική εικόνα με απουσία του HBeAg, λόγω σημειακής μετάλλαξης στην προπυρηνική περιοχή του γονιδιώματος του HBV, στη θέση 1896, με αποτέλεσμα τη διακοπή της μετάφρασης και αναστολή της σύνθεσης της πρωτεΐνης e (mu-1896)⁽¹⁰⁾.

Το αντιγόνο του πυρήνα του ιού της ηπατίτιδας Β (HBcAg) ως συστατικό της νουκλεοπρωτεΐνης του ιού δεν ανιχνεύεται στο αίμα. Δυνατό όμως να ανιχνευθεί με ανοσοφθορισμό ή ανοσοϊστοχημεία στους πυρήνες των ηπατοκυττάρων και η ανεύρεση του σχετίζεται με ιαιμία και ενεργό ιικό πολλαπλασιασμό.

Το αντίσωμα έναντι του HbsAg (αντι-HBs) βρίσκεται στον ορό ασθενών κατά τη φάση της ανάρρωσης από οξεία HBV λοίμωξη και η ανίχνευση του σημαίνει ανοσία έναντι επαναμόλυνσης. Ασθενείς με προηγηθείσα ηπατίτιδα Β, οι οποίοι είναι αντι-HBs θετικοί είναι και αντι-HBc θετικοί και διατηρούν το αντι-HBs και το αντι-HBc δια βίου (φυσική ανοσία). Αντίθετα άτομα που υπεβλήθησαν σε εμβολιασμό είναι μόνο αντι-HBs θετικά (αντι-HBc αρνητικά). Σπανίως, άτομα που ουδέποτε νόσησαν ή εμβολιάστηκαν είναι αντι-HBs θετικά. Αυτό εκφράζει ψευδοθετικό αποτέλεσμα ή μη ειδικό φαινόμενο σε μη εμβολιασθέντα και τα εν λόγω άτομα θεωρούνται επίνοσα. Ψευδώς θετικό αποτέλεσμα δυνατόν να οφείλεται και στη δράση του ρευματοειδούς παράγοντα. Επίσης μπορεί να εκφράζει παλαιά λοίμωξη που ιάθηκε και στην οποία ο τίτλος των αντι-HBc είναι πολύ χαμηλός και δεν δύναται να ανιχνευθεί.

Σε μερικά άτομα δυνατόν να συνυπάρχουν HBsAg και αντι-HBs. Αυτό απαντάται σε ασθενείς με χρόνια HBV λοίμωξη και το αντίσωμα δεν είναι προστατευτικό και πιθανό αναπαριστά έκθεση σε άλλους υπότυπους του ιού⁽¹¹⁾.

Όλοι οι ασθενείς που έχουν μολυνθεί απ' τον HBV αναπτύσσουν αντισώματα έναντι του αντιγόνου του πυρήνα (αντι-HBc) το οποίο προσδιορίζεται με μεθόδους RIA και ELISA (ολικό IgG και IgM). Ο δείκτης αυτός είναι πολύ ευαίσθητος και συμβατός με πρόσφατη ή παλαιά λοίμωξη. Το HBcAg είναι πολύ ανοσογόνο και τα αντισώματα παράγονται νωρίς κατά την οξεία ηπατίτιδα Β και επίσης παρουσιάζονται και κατά τη χρόνια λοίμωξη σε τίτλους που ποικίλουν αναλόγως του ιικού πολλαπλασιασμού. Το αντι-HBc δεν παράγεται από εμβολιασμό και μόνο του χωρίς την ύπαρξη του αντι-HBs δεν είναι προστατευτικό αφού δεν εκφράζει ανάρρωση ή ανοσία, αλλά απλώς μάρτυρα πρόσφατη ή παλαιά έκθεση στον ιό⁽⁸⁾.

Η παρουσία του αντι-HBc ως μόνου ορολογικού δείκτη, διαπιστώνεται στο 10% των υγιών αιμοδοτών και αφού αποκλεισθούν οι ψευδώς θετικές αντιδράσεις, η ανεύρεση του μπορεί να σημαίνει: 1) παλαιά ιαθείσα λοίμωξη, συνοδευόμενη από χαμηλό, μη ανιχνεύσιμο με τις συνήθεις ορολογικές μεθόδους, τίτλο αντι-HBs, 2) οξεία λοίμωξη στην περίοδο "του παράθυρου" κατά την εξαφάνιση του HBsAg και πριν την εμφάνιση του αντι-HBs. Τότε ανευρίσκεται υψηλός τίτλος αντι-HBc IgM. 3) Χρόνια λοίμωξη με χαμηλή

συγκέντρωση HBsAg, μη ανιχνεύσιμη με τις σύγχρονες ορολογικές μεθόδους ή ότι το HBsAg βρίσκεται εγκλωβισμένο σε κάποιο ανοσοσύμπλεγμα⁽⁹⁾.

Σε ασθενείς με χρόνια λοίμωξη απ' τον ιό της ηπατίτιδας δέλτα (HDV), εκ των δεικτών της χρόνιας HBV λοίμωξης δυνατό να ανιχνεύεται μόνο το αντι-HBc λόγω της κατασταλτικής δράσης του HDV επί του πολλαπλασιασμού του HBV και της παραγωγής των αντιγόνων του⁽¹²⁾.

Τα αντισώματα έναντι του πυρηνοκαψιδίου κλάσεως IgM (αντι-HBc IgM) ανιχνεύονται σε τίτλους κυμαινόμενους αναλόγως του ιικού πολλαπλασιασμού και της ηπατικής φλεγμονής⁽¹³⁾.

Το αντι-Hbe είναι IgG αντίσωμα έναντι του HBeAg και προσδιορίζεται με μεθόδους RIA και ELISA. Εμφανίζεται στον ορό μετά από ίαση από οξεία ηπατίτιδα και εξαφανίζεται μετά την πάροδο μερικών ετών. Η χρόνια HBV λοίμωξη δυνατόν να είναι ενεργός παρά την παρουσία αντι-Hbe (προπυρηνικά μεταλλαγμένος ιός).

Η ανίχνευση των πυρηνικών οξέων του ιού (HBV DNA) στον ορό γίνεται με τη μέθοδο κηλίδας ή με τον υβριδισμό υγρής φάσεως. Η ευαισθησία της μεθόδου αφορά επίπεδα 1-50 pg/ml που αντιστοιχούν σε 10^5 έως 10^6 γονιδιώματος /ml. Η δοκιμασία αυτή αποτελεί δείκτη ενεργού ιικού πολλαπλασιασμού για την παρακολούθηση της χρόνιας HBV λοίμωξης, τη διάγνωση των αναζωπυρώσεων της νόσου και της ανταπόκρισης στην αντιική θεραπεία. Ο προσδιορισμός του HBV-DNA με την αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (PCR) παρουσιάζει πολύ υψηλή ευαισθησία αφού δύναται να ανιχνεύσει 10-100 γονιδιώματα/ml.

Οξεία ηπατίτιδα Β

Η διάγνωση της οξείας HBV λοίμωξης γίνεται με ανίχνευση υψηλών τίτλων αντισωμάτων αντι-HBc IgM. Τα αντισώματα αυτά παραμένουν για χρονικό διάστημα 3-12 μηνών. Το HBsAg ανιχνεύεται 1-10 εβδομάδες μετά την έκθεση του ασθενούς στον ιό και 2-8 εβδομάδες προ της εμφάνισης ικτέρου. Η απουσία HBsAg δεν αποκλείει την οξεία ηπατίτιδα Β, αφού το 5-10% των περιπτώσεων το HBsAg είναι ήδη αρνητικό τη στιγμή της διάγνωσης λόγω ταχείας ανοσιακής κάθαρσης.

Διάγνωση χρόνιας ηπατίτιδας Β

Η παρουσία του HBsAg για διάστημα μεγαλύτερο των 6 μηνών, με ή χωρίς το HBeAg, δείχνει μετάπτωση σε χρονιότητα. Η φυσική ιστορία της HBV λοίμωξης χωρίζεται σε 4 φάσεις που δυνατό να διαρκούν από λίγα έτη έως και αρκετές δεκαετίες.

I. Φάση ανοχής: Στη φάση αυτή το HBV DNA με τη μέθοδο της κηλίδας ή του υβριδισμού υγρής φάσης είναι πολύ αυξημένο, το HBeAg είναι θετικό και το HbcAg εκφράζεται ανοσοϊστοχημικά στον ηπατοκυτταρικό πυρήνα. Οι τρανσαμινάσες είναι φυσιολογικές ή σχεδόν φυσιολογικές.

II. Φάση κάθαρσης: Ο πολλαπλασιασμός του ιού συνεχίζεται, αλλά αναγνωρίζεται πια απ' το ανοσιακό σύστημα που επιδιώκει την εκρίζωσή του. Η φάση αυτή χαρακτηρίζεται από ορομετατροπή του HbeAg σε αντι-HBe, το HBV DNA είναι αυξημένο αλλά όχι σε τόσο υψηλά επίπεδα όσο στο στάδιο της ανοχής, το αντι-HBc IgM είναι αυξημένο μερικές φορές σε επίπεδα οξείας ηπατίτιδος και το HBcAg εξακολουθεί να εκφράζεται στον πυρήνα και το πρωτόπλασμα.

III. Φάση ενσωμάτωσης: Το HBV DNA δεν ανιχνεύεται με τη μέθοδο κηλίδας ή υβριδισμού, το HBeAg είναι αρνητικό, το αντι-HBc IgM εμφανίζει πολύ χαμηλή τιμή (<0,300). Οι τρανσαμινάσες είναι φυσιολογικές.

IV. Φάση ενεργοποίησης: Εκφράζεται με αύξηση τρανσαμινάσων και HBV DNA, το αντι-HBe είναι θετικό, το αντι-HBc IgM είναι >0,300 και το HBcAg εκφράζεται στο πρωτόπλασμα και τον πυρήνα των ηπατοκυττάρων.

Ηπατίτιδα C

Ο ιός της ηπατίτιδας C (HCV) είναι ένας μικρού μεγέθους ιός, αποτελούμενος από μονόκλωνο RNA και περίβλημα που περιέχει λιποειδή. Ανήκει στους Φλαβιοϊούς και αποτελείται από δομικά και μη δομικά γονίδια. Τα δομικά γονίδια κωδικογραφούν για τα αντιγόνα του πυρήνα και γλυκοπρωτεΐνες του περιβλήματος, ενώ τα μη δομικά γονίδια (NS2, NS3, NS4, NS5) κωδικογραφούν τα απαραίτητα για τον πολλαπλασιασμό του ιού ένζυμα⁽¹⁴⁾. Η διάγνωση της οξείας και χρόνιας HCV λοίμωξης βασίζεται στον προσδιορισμό αντισωμάτων έναντι δομικών και μη δομικών πρωτεϊνών του ιού (ορολογική διάγνωση). Δεν μπορούν να ανιχνευθούν τα αντιγόνα του ιού στο αίμα λόγω της χαμηλής συγκέντρωσης που παρουσιάζουν.

Ορολογική διάγνωση

Στις υψηλής ευαισθησίας, δεύτερης και τρίτης γενιάς ανοσοενζυμικές ορολογικές μεθόδους (ELISA-2 και -3), χρησιμοποιούνται ιικά αντιγόνα απ' τη δομική και μη δομική περιοχή του ιικού γονιδιώματος.

Η ανεύρεση αντι-HCV με ELISA δυνατό να σημαίνει α) οξεία λοίμωξη, β) χρόνια λοίμωξη, γ) παλαιά λοίμωξη ιαθείσα όπου το αντίσωμα μπορεί να διατηρείται θετικό για μακρύ χρονικό διάστημα μετά την πλήρη ίαση, δ) ψευδοθετικότητα, ε) παθητική μεταβίβαση αντισωμάτων μετά από μετάγγιση αίματος ή παραγώγων αυτού ή διαπλακουντιακά από τη μητέρα στο νεογνό. Στην περίπτωση αυτή τα αντισώματα εξαφανίζονται σε διάστημα μικρότερο από 6 μήνες.

Η ψευδοθετικότητα της ELISA αφορά συνήθως χαμηλούς τίτλους και συνοδεύεται από φυσιολογικές τρανσαμινάσες. Οφείλεται κυρίως σε μη ειδική προσκόλληση γ-σφαιρινών του ορού σε άτομα με υπεργαμμασφαιριναιμία (χρ. Ελονοσία, ρευματοειδής αρθρίτις) ή σε τεχνικό σφάλμα όταν ο ορός υγροποιήθηκε και στερεοποιήθηκε κατ' επανάληψη. Σε

περιπτώσεις υπεργαμμασφαιριναιμίας, η οροθετικότητα εξαφανίζεται με τη μείωση της συγκέντρωσης της γ-σφαιρίνης. Για τον αποκλεισμό των ψευδοθετικών αποτελεσμάτων, σε άτομα μικρού κινδύνου με φυσιολογικές τρανσαμινάσες, απαιτείται επιβεβαίωση με την τεχνική του ανοσοτυπώματος με ανασυνδυασμένα αντιγόνα του ιού (RIBA και MATRIX).

Η RIBA δεύτερης γενιάς, ελέγχει την παρουσία αντισωμάτων έναντι των ιδίων ικών 4 αντιγόνων ELISA (C-22, C-33, C-100, 3-5-1-1) και του ανθρωπίνου SOD που είναι καθηλωμένα σε ταινίες. Η επιβεβαιωτική RIBA 2, θεωρείται θετική όταν αντιδρά τουλάχιστον με δυο ικά αντιγόνα. Όταν αντιδρά μ' ένα μόνο αντιγόνο η αντίδραση θεωρείται απροσδιόριστη και απαιτείται έλεγχος ιαμίας.

Ιολογική διάγνωση

Σε εργαστήρια μοριακής βιολογίας μπορούν να εφαρμοσθούν δοκιμασίες για τον προσδιορισμό των πυρηνικών οξέων του ιού (HCV RNA) στον ορό, όπως η αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (PCR) και η μέθοδος διακλαδιζόμενου DNA (b DNA). Λόγω του ότι ο τίτλος της ιαμίας στη HCV λοίμωξη είναι χαμηλός, δεν είναι δυνατό να απομονωθούν τα πυρηνικά οξέα του HCV με τη μέθοδο κηλίδας ή τον υβριδισμό υγρής φάσης. Έτσι η διαπίστωση της HCV ιαμίας γίνεται με "διπλή" PCR μετά από ανάστροφη μεταγραφή με 2 ζεύγη εκκινητών (RT/"διπλή" PCR).

Ιδιαίτερως καθοριστικός είναι ο διαγνωστικός της ρόλος α) στις οροαρνητικές μορφές της νόσου, β) στην οξεία ηπατίτιδα C μια και είναι θετική μια εβδομάδα μετά απ' την έκθεση στον ιό και μερικές εβδομάδες πριν την οροαναστροφή, γ) σε ασυμπτωματικά, οροθετικά ή μη άτομα με φυσιολογικές αμινοτρανσφεράσες, δ) σε οροθετικούς με αυτοαντισώματα πριν την έναρξη θεραπείας, ε) σε ανοσοκατασταλμένους, στ) στην παρακολούθηση ατόμων υπό θεραπεία, ζ) στον καθορισμό των ικών γονοτύπων και η) στην κάθετη μετάδοση του ιού από μητέρα σε νεογνό.

Η παρουσία ιαμίας είναι το μοναδικό στοιχείο που διαφοροποιεί την παλαιά ιαθεία λοίμωξη απ' την πρόσφατη ή την ενεργό.

Ο ποσοστικός προσδιορισμός της ιαμίας δυνατό να επιτευχθεί με ποσοστική RT/"διπλή" PCR και με πολλαπλασιασμό του σώματος του ανιχνευτικού DNA διακλαδισμένης αλυσίδας (branched DNA-enhanced label amplification assay).

Οξεία ηπατίτιδα C

Ο χρόνος ανάπτυξης των αντισωμάτων ποικίλλει από ασθενή σε ασθενή. Τα αντισώματα δυνατό να εμφανισθούν 2-4 εβδομάδες μετά την έναρξη της νόσου, ενώ ο έλεγχος για HCV-RNA με PCR αποκαλύπτει τη νόσο μια εβδομάδα μετά την έναρξη.

Η ανεύρεση αντι-HCV θετικού με ELISA ή HCV-RNA με PCR δε διαφοροδιαγιγνώσκει οξεία ή χρόνια HCV λοίμωξη. Η ορολογική διάγνωση της οξείας ηπατίτιδας C βασίζεται στην οροαναστροφή (θετικοποίηση των αντι-HCV). Θεωρείται ότι κάθε αντι-HCV οροθετικό

άτομο με υψηλές τιμές αμινοτρανσφερασών για περισσότερους από 12 μήνες πάσχει από χρόνια HCV λοίμωξη.

Ένα 20% των ασθενών με οξεία HCV λοίμωξη εμφανίζει φυσιολογικές τρανσαμινάσες 6 έως 12 μήνες μετά από οξεία προσβολή και αρνητικοποίηση του HCV-RNA. Η εξάλειψη των αντισωμάτων δύναται να επέλθει μετά παρέλευση ετών.

Χρόνια HCV λοίμωξη

Η οξεία ηπατίτιδα C μεταπίπτει σε χρονιότητα σε ποσοστό 60-80% που συνοδεύεται από αυξημένα επίπεδα τρανσαμινάσων με ανίχνευση HCV-RNA στον ορό και θετικά αντισώματα.

Όταν οι τρανσαμινάσες είναι φυσιολογικές σε αντι-HCV οροθετικό άτομο θα πρέπει να γίνεται έλεγχος ορού με RT/"διπλή" PCR. Επί HCV-RNA ιαμίας επιβάλλεται βιοψία ήπατος ενώ απουσία HCV-RNA ιαμίας σε αντι-HCV οροθετικό άτομο δυνατό να σημαίνει ψευδώς αρνητικό αποτέλεσμα, ίαση, ψευδοθετικότητα των αντι-HCV ή παροδικά αρνητική φάση της ιαμίας. Η πιστοποίηση HCV-RNA ιαμίας σε αντι-HCV οροαρνητικό άτομο δυνατό να σημαίνει ψευδοθετικό αποτέλεσμα ή αδυναμία ανάπτυξης αντισωμάτων, λόγω ανοσοκαταστολής ή κρυψιγενώς.

Ηπατίτιδα D

Ο ιός της ηπατίτιδας D (HDV) είναι RNA παρασιτικός ιός, δηλαδή χρειάζεται πάντα της βοήθεια του HBV για να πολλαπλασιαστεί. Δεν υπάρχει HDV λοίμωξη χωρίς HBV λοίμωξη. Στην κλινική πράξη η HDV λοίμωξη ανιχνεύεται με τη βοήθεια ορολογικών δεικτών και του αντιγόνου του ιού στον ηπατοκυτταρικό πυρήνα με ανοσοϊστολογία ή ανοσοφθορισμό.

Συλλοίμωξη από HBV και HDV

Πρόκειται για ταυτόχρονη λοίμωξη υγιούς ατόμου απ' τον HBV και τον HDV. Στις περιπτώσεις αυτές παρατηρείται μια αυτοπεριοριζόμενη νόσος, όπου η ορολογική ανοσολογική απάντηση στην HDV λοίμωξη δύσκολα ανιχνεύεται. Δυνατόν να απουσιάζει εντελώς ή να ανιχνεύεται για μικρό χρονικό διάστημα με ανεύρεση θετικού τίτλου αντι-HDV IgM στον ορό ή με ανίχνευση RNA.

Χαρακτηριστική είναι η διφασική νόσηση με δυο κορυφές ALT σε απόσταση μερικών εβδομάδων. Το HDV-RNA, όταν ανιχνεύεται, εντοπίζεται στον ορό κατά το χρονικό σημείο της πρώτης κορυφής των τρανσαμινάσων. Η δεύτερη αιχμή οφείλεται στην ενεργοποίηση του HBV. Η συλλοίμωξη HBV και HDV οδηγεί συνήθως σε ίαση.

Οξεία επιλοίμωξη απ' τον HDV

Θεωρείται ότι η επιμόλυνση HDV σε χρόνια HBV λοίμωξη είναι συχνότερη της ταυτόχρονης λοίμωξης και παρουσιάζει βαρύτερη κλινική εικόνα.

Σε περίπτωση επιμόλυνσης ανιχνεύονται σταθερά στον ορό το αντι-HDV IgM και το HDV-RNA. Το αντι-HBc IgM είναι αρνητικό ή σε χαμηλούς τίτλους και το

HBV-DNA αρνητικό διότι η σύνθεση του HBV καταστέλλεται απ' τον HDV (15,16).

Χρόνια λοίμωξη απ' τον HDV

Στην κλινική πράξη, η διάγνωση της χρόνιας HDV ηπατίτιδας γίνεται με ανεύρεση στον ορό θετικού HBsAg, θετικού αντι-HBc, θετικού ολικού αντι-HDV σε υψηλό τίτλο και άλλοτε άλλου τίτλου αντι-HDV IgM που κυμαίνεται αναλόγως με τον πολλαπλασιασμό του HDV. Σε ασθενείς με χρόνια HDV λοίμωξη, μπορεί απ' τους ορολογικούς δείκτες της HBV λοίμωξης να ανιχνεύεται μόνο το αντι-HBc λόγω της κατασταλτικής δράσης του HDV επί του πολλαπλασιασμού του HBV.

Δείκτης δε προέχουσας αιτιολογίας της ηπατοκυτταρικής βλάβης είναι το αντι-HBc IgM (απ' το HBV) και το αντι-HDV IgM (απ' το HDV).

Ηπατίτιδα E

Ο ιός της ηπατίτιδας E (HEV) είναι RNA ιός, μεγέθους 32-34 nm με θετική αλυσίδα που το γονιδίωμα του κωδικογραφεί για τρία ανοικτά πλαίσια ανάγνωσης.

Ο HEV προκαλεί μόνο οξεία ηπατίτιδα που κλινικά μοιάζει με την οξεία ηπατίτιδα A. Η διάγνωση τίθεται με τον προσδιορισμό ειδικών IgM αντισωμάτων (αντι-HEV IgM) με ELISA που εξαφανίζονται μετά λίγους μήνες. Τα αντισώματα κλάσεως IgG (αντι-HEV IgG), με ELISA παρουσιάζονται κατά τη διάρκεια της οξείας ηπατίτιδας E και παραμένουν για πολλά έτη προστατεύοντας από επαναμολύνσεις⁽¹⁷⁾.

Ηπατίτιδα G

Πρόκειται για ένα RNA ιό της οικογένειας flaviviridae, μονής αλυσίδας και θετικής σημάνσεως, αποτελούμενο από 9400 νουκλεοτίδια και 2900 αμινοξέα, που εμφανίζεται με δυο υπότυπους (HGV και GBV-C).

Την ανακάλυψη του ιού ακολούθησε η ανακάλυψη του αντισώματος E2 για την περιοχή της κάψας του (18). Το αντι-E2 φαίνεται ότι είναι ένα αντίσωμα της φάσης ανάρρωσης ανιχνεύσιμο αφού έχει επέλθει η κάθαρση του RNA του ιού και μάλλον ασκεί προστατευτικό ρόλο στην επαναλοίμωξη απ' τον ιό⁽¹⁹⁾.

Με τη χρήση του συνδυασμού HGV/GBV-C RNA και αντι-E2 εκτιμάται ο δείκτης έκθεσης και ο δείκτης ενεργού λοίμωξης. Η ανίχνευση του HGV/GBV-C RNA γίνεται με τη χρήση διπλής PCR στον ορό.

Ιός TT (TTV)

Πρόκειται για γραμμικό DNA ιό, 3739 βάσεων, μονής αλυσίδας, χωρίς φάκελο που μάλλον ανήκει στην οικογένεια Circoviridae⁽²⁰⁾. Η διάγνωση τίθεται με PCR μεθόδους, ενώ ακόμη δεν είναι γνωστοί ορολογικοί δείκτες (αντιγόνα-αντισώματα) της TTV λοίμωξης. Η κλινική σημασία του ιού παραμένει προς το παρόν άγνωστη.

Βιβλιογραφία

1. Sjogren MH. Serologic diagnosis of viral hepatitis. *Med Clin North America* 1996; 80: 929-956.
2. Koff RS. Viral hepatitis. In *Diseases of the Liver*, 7th edition, Schiff L, Schiff ER (eds) JB Lippincott Company Philadelphia 1993; 492-541.
3. Lemon SM. Type A viral Hepatitis. New developments in a old disease. *N. Engl J Med.* 1985; 313: 1059-1063.
4. Ντουράκης Σ. Η κλινική διάσταση της HAV λοίμωξης. *Ηπατίτιδα Α*. Στ. Χατζηγιάννης, Ιατρικές Εκδόσεις Π.Χ. Πασχαλίδη 1996, σελ. 33-46.
5. Ντουράκης Σ. Προβλήματα στη διάγνωση των ιογενών ηπατίτιδων στην κλινική πράξη. Έκδοση Ελληνικής Γαστρεντερολογικής Εταιρείας, Αθήνα, 1004, σελ. 39-60.
6. Ντουράκης Σ. Οι ιοί της ηπατίτιδας. Αιτιολογικοί και διαγνωστικοί δείκτες οξείας και χρόνιας λοίμωξης. Έκδοση Ιατρικής Εταιρείας Αθηνών. Αθήνα 1994, σελ. 44-70.
7. Milter RH, Kaneno S., Chang CT. Compact organization of the hepatitis virus genome. *Hepatology* 1989; 9: 322-328.
8. Rizzeto M. Viral infections of the liver. In *Oxford Textbook of Clinical Hepatology*, Birtcher J., Benhamou J-P, McIntyre N., Rizzeto M., Rodes J. (eds). Second edition, Oxford Medical Publications, Oxford University Press 1999, 827-922.
9. Koff RS. Difficult serologic diagnosis in viral hepatitis, in Hollinger FB, Lemon S.M., Margolis H.S. (eds) *viral hepatitis and liver disease* Williams and Wilkins Baltimore PP 790-791.
10. Carman WF, Jacyna MR, Hadziyannis Ss., Karayannis P., McGarvey M., Makris A., Thomas HC. Mutation preventing formation of hepatitis B e antigen in patients with chronic hepatitis B infection. *Lancet* 1989; ii 588-591.
11. Sheil MT, Taswell HF, Craja AJ et al. Frequency and significance of concurrent Hepatitis B vaccine antigen and antibody in acute and chronic hepatitis B. *Gastroenterology* 1987; 93: 675-680.
12. Ντουράκης Σ. Ιογενείς Ηπατίτιδες Εσωτερική Παθολογία, ΣΙ Χατζηγιάννης. Ιατρικές εκδόσεις ΠΧ Πασχαλίδη, Αθήνα 1994, σελ. 347-360.
13. Hadziyannis SJ, Hadziyannis AS, Dourakis S, Alexopoulou A, Horsch A, Hess G. Clinical significance of quantitative anti-HBc IgM assay in acute and chronic HBV infection. *Hepato-Gastroenterol* 1993; 40: 588-592.
14. Ντουράκης Σ. Ο ιός της ηπατίτιδας C. Αρχείο Ελληνικής Ιατρικής 1994 11, Συμπληρωματικό τεύχος Α, Α43-Α84.
15. Aragona M, Macano S, Carredo F et al. Serological response to the hepatitis delta virus. *Lancet* 1987; 1478-1480.
16. Dibisceglie AM, Negro F. Diagnosis of hepatitis delta infection: *Hepatology* 1989; 10: 1014-1016.
17. Goldsmith R, Yarbough PO, Reyes GR, Fry KE, Gabor KA, Kamel M et al. Enzyme-linked immunosorbent assay for diagnosis of acute sporadic hepatitis E in Egyptian children. *Lancet* 1992; 339: 328-331.
18. Pilot-Matias TJ, Carrick RJ, Coleman PF et al. Expression of GB virus C E2 glucoprotein using Semliki

Forest virus vector system and its utility as a serologic marker. *Virology* 1996; 225: 282-292.

19. Tacke M, Schomolke S, Schlueter V et al. Humoral immune response to the E2 protein of hepatitis G virus is associated with long term recovery from infection and reveals a high frequency of hepatitis G virus exposure among healthy blood donors. *Hepatology* 1997; 26: 1626-1633.

20. Takahashi K, Ohta Y, Mishiro S. Partial 2,4-KB sequences of TT virus (TTV) genome from eight Japanese isolates: diagnostic and phylogenetic implications. *Hepatol Res* 1998; 12: 111-120.