Медико-диагностична лаборатория ЦибаЛаб ЕООД
София 1330, бул."Акад. И. Е. Гешов" 2Е (Бизнес Център Сердика), тел. 920 00 11, 0889 437 403,
www.cibalab.com, e-mail: office@cibalab.com

Лабораторни констелации и методи за диагностика на вирусни хепатити, прилагани в лаборатория „Цибалаб“

Д-р Десислава Велчева, специалист „Вирусология”

I. Същност

Лаборатория „Цибалаб” разполага с пълен набор от изследвания за диагностика на вирусните хепатити-биохимични, серологични, вирусологични и молекулярно-биологични иследвания.Могат да се диагностицират всички форми на остри вирусни хепатити - тип A, B , C, E; хронични хепатити B, C, D; мониториране на терапия при вирусните хепатити; диагностика на инфекциозни заболявания, протичащи с клиника на остър вирусен хепатит - EBV и CMV.

II. Методи на определяне

1. Методи за диагностициране на остър вирусен хепатит **тип A-** anti-HAV IgM и anti-HAV IgG

2. Методи за определяне на инфекция с **HBV**

- Доказвене на HbsAg, anti-HBcIgM, anti-HBcIgG, anti-HBsAg-,HBeAg,anti-HBeAg , количиствено определяне на HbsAg,по методите CLIA(хемилуминисцентенанализ), и ECLIA(електрохемилуминисцентен анализ)
- Доказване на HBV ДНК с количествен PCR Real Time метод (полимеразно-верижна реакция с отчитане в реално време)

3.Методи за доказване на **HCV**

- Доказване на anti-HCV по методите CLIA и ECLIA
- Western blot
- Доказване на HCV РНК с количествен PCR Real Time метод (полимеразно-верижна реакция с отчитане в реално време)
- Качествено доказване на HCV РНК с PCR

4.Методи за доказване на **HDV**

- Доказване на антитела anti HDV IgM и anti HDV total по метода ELISA

5. Методи за доказване на **HEV**

- Доказване на антитела anti HEV IgM по метода ELISA

6. Доказване на вирусспецифични антитела към отделните антигени на **EBV** от клас IgM и IgG- anti EA(D)-Early(Diffuse) Antigen- IgM и IgG- по метода ELISA, anti VCA(Viral capsid Antigen) IgM и IgG- по метода CLIA, anti EBNA1-Epstein Barr Nuclear Antigen- IgG- по метода ELISA

- Количественото определяне на EBV ДНК с real time PCR

7.Доказване на специфични антитела към **CMV** по метод CLIA- anti CMV IgM , anti CMV IgG

III.Клинично значение и информативно съдържание

1. Диагностика на остри вирусни хепатити

Дагностичния панел за доказване на OBX включва:
-anti-HAV IgM;
-HbsAg, anti-HBc IgM;
-anti-HCV.
При отрицателни маркери се включват anti HEV IgM , anti VCA IgM, CMV IgM

2. Диагностика на хронични хепатити

- Повърхностен антиген **HBsAg** - основен маркер, който се доказва в кръвта на почти всички заразени с HBV. Наличието дори и на минимални количества HbsAg има диагностична стойност.Наличието на HbsAg , едновременно с HbeAg е белег за активна вирусна репликация.При по-ниски нива на вирусната репликация чувствителността на използваните молекулярни методи е от решаващо значение за откриването на HBV ДНК.
- Наличието на **HbeAg** в кръвта се съпровожда с репликацията на HBV, така че този антиген е маркер за висока вирусна инфекциозност, като неговата липса не означава и липса на вирусно размножение в заразения индивид.Това се отнася най-вече за инфекция с мутирал вариант на HBV, при който липсва продукция на HbeAg.
- Наличието на **anti – Hbc IgG** антитела съответсва на минала или настояща инфекция с HBV. Те са маркер за установяване разпространението на инфекцията , като наличието им предполага изследването и на други маркери- HbsAg и anti – HbsAg.
- Значението на anti – **Hbc IgM** се определя от наличието им във високи титри при остра инфекция с HBV, независимо дали е клинично проявена или е субклинична.Откриват се и при 10-15% от пациентите с хронична форма на инфекциа, но в по-ниски титри.
- **Anti-HBs** антителата се появяват след като HbsAg изчезне. Граничната стойност за определяне на положителен резултат е 10 mIU/ml, като за ефикасни защитни стойности се приемат над 100 mIU/ml. Това са антителата, които се формират след имунизация с противохепатитна ваксина.

Интерпретация на серологичните маркери на HBV		
Тест	**Резултат**	**Значение**

Интерпретация на серологичните маркери на HBV		
HBsAg anti-HBc anti-HBs	Отрицателен Отрицателен Отрицателен	Възприемчивост към HBV инфекция
HBsAg anti-HBc anti-HBs	Отрицателен Положителен Положителен	Имунитет след заболяване
HBsAg anti-HBc anti-HBs	Отрицателен Отрицателен Положителен	Поствакcинален имунитет
HBsAg anti-HBc anti-HBc IgM anti-HBs	Положителен Положителен Положителен Отрицателен	Остра инфекция
HBsAg anti-HBc anti-HBc IgM anti-HBs	Положителен Положителен Отрицателен Отрицателен	Хронична инфекция

Диагностичен профил на смесената HBV и HDV инфекция:

Коинфекция - Клиничната картина на острия хепатит В е по-тежка при наличието на коинфекция с HDV.По-голяма е и вероятността от развитието на фулминантен хепатит.. Делта антигена рядко се детектира в серума , въпреки че anti- HDV IgM се доказва в продължение на 2- 6 седмици. Anti-HDV IgG са обикновено или много ниски или не се доказват въобще.

Суперинфекция - По-честата форма на делта инфекция е суперинфекцията. Наличния HBsAg в циркулацията захваща делта вируса, и дори и да е в малко количество усилва синтеза му незабавно.Първоначално делта антигена се появява в серума, повишават се чернодробните ензими,последвани от anti- HDV IgM и anti-HDV IgG.За разлика от острата коинфекция делта IgG могат да достигнат много високи стойности.При острата делта суперинфекция при носителите на HBV може да се наблюдава спадане на HBsAg до недетектируеми нива, което може да затрудни диагностицирането.
Резултатите трябва да бъдат интерпретирани успоредно със серологичните маркери на хепатит В.

Интерпретация	HBsAg	AntiHBc total	AntiHBc IgM	HBeAg	antiHBe	antiHDV total	antiHDVIgM	antiHBs
Остра коинфекция с HBV и HDV.	+	+	+	+	-	+	+	-
Остра делта суперинфекция	+	+	-	+/-	+/-	+	+	-
Късна фаза на остра делта суперинфекция	+	+	-	+/-	+/-	+	-	-
ПрекаранаHBV и делта инфекция.	-	+	-	-	+	+	-	-
Благоприятно приключила HBV и HDV инфекция.	-	+	-	-	+/-	+	-	+

Изследването за наличие на делта инфекция се препоръчва в следните случаи:

- при HBsAg позитивни
- хроничен хепатит В
- всички форми на фулминантен хепатит, дори и ако са HBsAg негативни

3.Мониториране на терапия при вирусни хепатити
В зависимост от етиологичния причинител могат да се използват следните методи:
-Количествено определяне на HbsAg
-Доказване на HBV ДНК с количествен PCR Real Time метод Използва се за :
- Проследяване на ефекта от антивирусна терапия при хронични хепатит В вирусни инфекции
- Хронични форми на хепатит В вирусната инфек
- При съмнение за окултни HBV инфекции

-Доказване на HCV РНК с количествен PCR Real Time метод
Количественото определяне на EBV ДНК с real time PCR

4. Индикации:
При всички клинични форми на вирусни хепатити.

5.Материал за изследване:
серум за доказване на антитела или 3 мл нефракционирана кръв с K_2EDTA (цереброспинална течност)за определяне на вирусния товар за доказване на EBV и плазма за изследване на количествен PCR за доказване на HBVДНК и HCV РНК.

Използвана литература
1.Дундаров С.,Клинична вирусология, Медицина и физкултура, София 2006
2.N.J.Dimmock,A.J.Easton,Introduction to modern virology,Blackwell Publishing,2007
3. Fan H, Gulley ML.Epstein-Barr viral load measurement as a marker of EBV-related disease.Mol Diagn. 2001 Dec;6(4):279-89.
4.Gulley ML.Molecular diagnosis of Epstein-Barr virus-related diseases. J Mol Diagn. 2001 Feb;3(1):1-10

07.03.2011г. *С пожелания за ползотворна съвместна дейност:*
(Д-р Д. Петкова –управител)