Медико-диагностична лаборатория ЦибаЛаб ЕООД
София 1379, ул."Гюешево" 83 (Бизнес Център Сердика), тел. 920 00 11, 0889 437 403,
www.cibalab.com, e-mail: office@cibalab.com

ЛАБОРАТОРИЯ CibaLab

Количествен PCR Real Time метод за диагностика на хепатит В вирусна ДНК

1. Същност

Вирусът на хепатит В (HBV) е двойноверижен ДНК-ов вирус, принадлежащ към сем Hepadnaviridae. Пътищата за предаване на инфекцията са парентерален - посредством кръв и кръвни продукти, нестерилни медицински инструменти, акупунктура, перинатален - от майка на новородено по време на раждането, полов път.
В МДЛ "Цибалаб" се изработват HbsAg, anti-HBc IgM, anti-HBc IgG, anti-HBsAg, HBeAg, anti-HBeAg.

2. *Методи на определяне на хепатитни маркери, използвани в МДЛ"Цибалаб"*

2.1. ELISA, **CLIA** (хемилуминисцентен анализ), **ECLIA** (електрохемилуминисцентен анализ)

– **2.2. Доказване на HBV ДНК с количествен PCR Real Time метод (полимеразно-верижна реакция с отчитане в реално време)**

Извършва се детекция на вирусната ДНК, като наличието на HBV ДНК е индикатор за вирусна репликация и съответстващата на това висока инфекциозност. С този метод се определя количествено ДНК при :

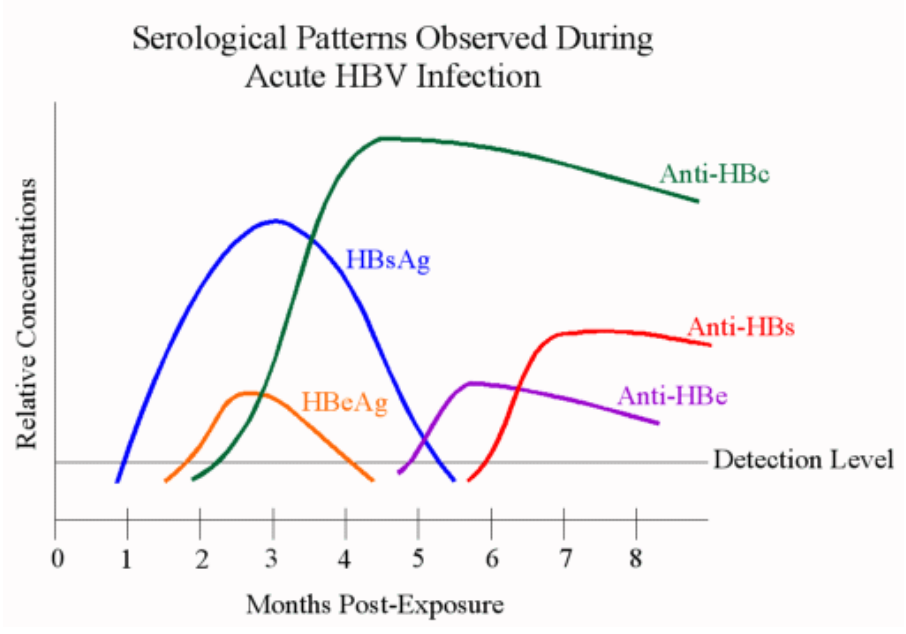
- всички HbsAg положителни;
- всички HbeAg положителни пациенти;
- при повечето anti – HbeAg положителни;
- в някои случаи се доказва ДНК и в проби, отрицателни за HbsAg, но положителни за anti – Hbc IgG - при т.нар.окултни хепатит В вирусни инфекции.

3. Клинично значение и информативно съдържание

Повърхностният антиген HBsAg е основен маркер и се доказва в кръвта на почти всички заразени с HBV. Чувствителността на използваните тестове вече е под 0.5 ng/mL. 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.
Благоприятно прогностично значение имат:

- Сероконверсията на HbeAg към anti – Hbe при острите хепатити ,особено когато е съчетана с нормални чернодробни ензими показващи цитолиза,защото е последица на намалена вирусна репликация.
- Наличието на anti – Hbe антитела при асимптомни носители също е маркер за благоприятно протичане на инфекцията и характеризира състоянието неактивен HBV носител, съчетано с ниска вирусна репликация.

Наличието на anti – Hbc IgG антитела съответсва на минала или настояща инфекция с HBV, съобразно наличието или липсата на HbsAg. Основната им характеристика е персистирането за дълъг период от време. 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**
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	Поствaксинален 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

Индикации за изследване на HBV ДНК с количествен PCR Real Time метод

- Проследяване на ефекта от антивирусна терапия при хронични хепатит В вирусни инфекции
- Хронични форми на хепатит В вирусната инфекция
- При съмнение за окултни HBV инфекции

Линейният диапазон на използвания тест е от 300-100 000 000 копия HBV/мл.

4. ***Материал за изследване и инструкции за пробовземане***

Изследването се извършва от венозна кръв. Материалът за HBV ДНК се взема в PPT епруветка със сепариращ гел. Трябва да се центрофугира до един час след пробовземане.
Събраните по този начин проби могат да се съхраняват до 72 часа в хладилник на 2-8°C. Материалът не трябва да бъде замразяван.

С пожелания за ползотворна съвместна дейност:
08.02.2010 г. *(Д-р Д. Петкова –управител)*