

CORELAȚII CLINICO-TERAPEUTICE ÎN FUNCȚIE DE ASPECTUL IMUNOBLOTULUI ÎN INFECȚIA CU VIRUSUL HEPATITEI C

Iuliana Dărășteanu*

REZUMAT

Se prezintă etapele diagnosticului infecției cu VHC arătându-se că detectarea diferitelor proteine virale poate avea semnificație clinică și terapeutică.

Cuvinte cheie: infecție VHC, diagnostic.

Diagnosticul infecției cu virusul hepatitei C (VHC) a fost posibil până de curând numai prin excluderea altor cauze de afectare cronică hepatică. Posibilitatea unei infecții cronice cu VHC apare inițial prin prezența semnelor și simptomelor de boală hepatică cronică în asociere cu un istoric de **factori de risc** pentru VHC și anume:

- transfuzii de sânge
- utilizare de droguri pe cale i.v.
- parteneri sexuali multipli sau contact sexual cu un purtător VHC
- contact prelungit cu un purtător VHC
- lucrător într-un spital

Odată cu descoperirea și utilizarea testelor de detectare a anticorpilor anti-VHC și a tehnicii PCR, diagnosticul infecției cu VHC a devenit posibil.

Etapile diagnosticului infecției cu VHC sunt:

1. detectarea anticorpilor anti-VHC (ELISA)
2. confirmarea prezenței anticorpilor anti-VHC cu imunoblotul (RIBA)
3. serotiparea virusului VHC (prin reacția imunoenzimatică ELISA) și genotiparea VHC (prin PCR)
4. „viral load“ („încărcătură virală“) - prin PCR amplificat.

Diferențele dintre testele ELISA și imunoblot sunt:

ELISA	IMUNOBLOT
Screening	Confirmare
Ieftină	Costisitor
Fals +/-	Sensibilitate

Genomul VHC cuprinde 4 regiuni (**Fig. 1**):

- regiunea 5' non-codificată (netranslatată) 5'NT
- proteinele structurale
- regiunea non-structurală
- regiunea 3' non-codificată

Regiunile C, NS3 și NS4 sunt cele mai conservate domenii ale genomului și de aceea sunt cele mai potrivite pentru a fi folosite ca antigen pentru teste ce evidențiază anticorpii anti-VHC.

În schimb, anelopa proteică (E1, E2/NS1) diferă la fiecare din virusurile izolate, uneori chiar la același pacient.

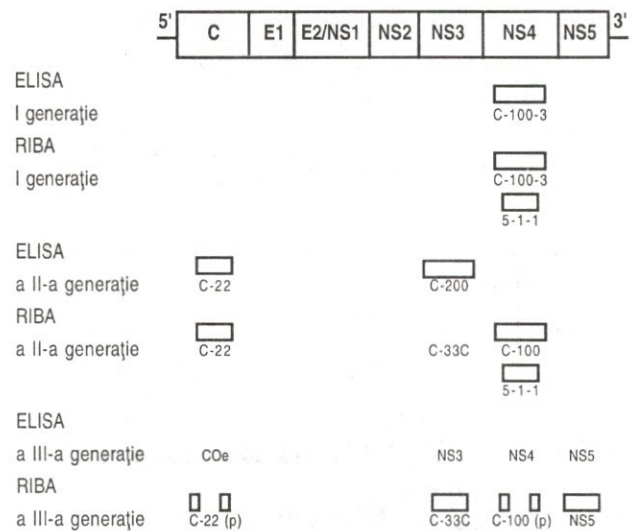
ABSTRACT

Clinical-therapeutic correlations depending on the immunoblot aspect in HCV infection

The diagnosis stages of HCV infection are presented, showing the clinical and therapeutical significance that may have the detection of various viral proteins.

Key words: HCV infection, diagnosis.

Fig. 1. Testele ELISA și Imunoblot în infecția cu VHC



Modificări secvențiale la nivelul acestei regiuni pot surveni în timpul evoluției bolii și pot avea un rol important în evoluția către cronicizare.

Core și NS3 au fost detectate mai rar în cazul carcinomului hepatocelular, comparativ cu 5'NT. Utilizând o metodă PCR, s-au găsit secvențe identice 5'NT atât în țesutul tumoral cât și în țesutul netumoral din jur. Conservarea regiunii 5'NT sugerează că elementele capătului terminal 5' al genomului viral joacă un important rol în patogeneza carcinomului hepatocelular. Această regiune pare să lege proteina celulară care ar controla replicarea sau translația VHC.

Studii prospective recente au arătat că seroconversia anti-virus C este mai frecventă în hepatitele acute ce evoluează către o formă cronică decât în cursul hepatitelor acute rezolutive, și că anticorpii anti-C 100-3 se negativează mai frecvent în cursul hepatitelor ce evoluează către vindecare.

*Dr. Iuliana Dărășteanu, medic rezident și doctorand, Institutul de Boli Infecțioase „Prof. dr. Matei Balș“, București

Recent a fost lansată și ipoteza că proteina NS5 ar juca un rol în rezistența VHC la terapie. Pacienții care răspund la IFN au reactivitate mai puternică împotriva NS5 decât non-responderii. S-a sugerat că modificările moleculare în regiunea NS5 ar fi răspunzătoare de aceste diferențe.

Anticorpul anti-VHC utilizați în diagnosticul infecției apar în ser la intervale diferite de timp după infecție. Astfel anti C33c apar primii în circa 50% din cazuri. La restul pacienților primii apar anti C22 și apoi anti C100. Anti C33c și C22 sunt primii și cei mai sensitivi markeri ai infecției cu VHC. Cei mai mulți pacienți cu infecție VHC vor avea anti-C22 sau anti-C33 prezenți în ser la 6 săptămâni de la expunere, în timp ce anti-C100 pot rămâne negativi și la 6 luni după infecție. Anticorpul anti-C100 pot rămâne negativi și la 6 luni după infecție. Anticorpul anti c100-3 apar la 80 - 100% din pacienții cu hepatită cronică și doar la 15 - 60% din cei cu infecție acută (Fig. 2 și Fig. 3).

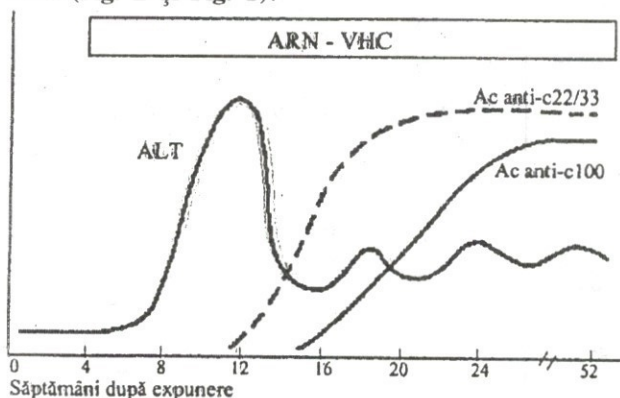


Fig. 2. Diagnosticul serologic în hepatita virală C

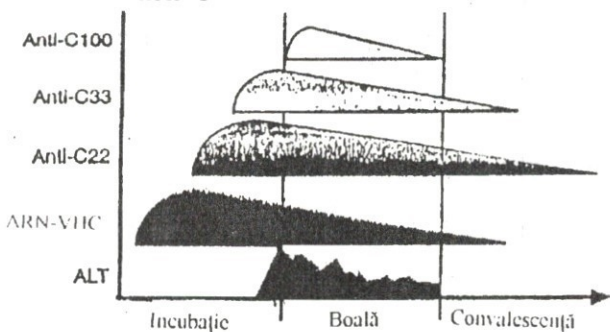


Fig. 3. Evoluția anticorpilor anti-VHC în infecția cu VHC

Pentru monitorizarea terapiei cel mai bine este să se determine titrul antiC100 prin metode semicantitative. Anti C100 dispar primii la pacienții cu hepatită cronică C care răspund la terapia antivirală (la aproximativ 30% din pacienți dispar în 2 ani), dar au titruri scăzute semnificativ față de anti C22 și antiC33.

- Detectarea anticorpilor împotriva proteinelor anvelopei (anti-E1/S2) ar fi legată de vindecarea după infecția cu VHC
- Apariția anti-E1/S2 și scăderea sau dispariția anti-E2/NS1 sunt semnificativ asociate cu un răspuns redus la interferon (INF)
- Anti E2/NS1 au un titru scăzut la purtătorii VHC asimptomatici cu nivel scăzut al replicării virale

- Anti NS2 apar mai târziu, la peste un an de la contactul infectant.

- Anti NS5 apar frecvent în boala cronică.

85% din pacienții cu hepatită acută C și viremie persistentă, care progresează spre boală cronică, prezintă seroconversii față de NS5.

Alte studii au arătat că anticorpul anti-NS5 sunt primii care apar în 4,7% din cazurile studiate, înaintea anticorpilor anti-C33c.

Atât testele ELISA cât și testele de imunoblot sunt de trei generații în funcție de anticorpul detectat (Fig. 1).

Testele de primă generație detectează anticorpul anti-VHC împotriva polipeptidului C100 ce corespunde aproape în întregime proteinei NS4.

Testele de generația a II-a detectează și anticorpul anti-C22 și anti-C33, având drept corespondent core și proteina NS3.

Sensibilitatea redusă a testelor de generația I-a ar fi atribuită prevalenței scăzute a anti-C100 față de anti-C22 și a anti-C33.

Testele de generația a III-a detectează și anti-NS5.

Nu există nici o diferență a răspunsului la IFN a pacienților cu serologie pozitivă ELISA-1 (NS4) și ELISA-2 (NS4, core, NS3) față de cei pozitivi doar ELISA-2. Deci reactivitatea împotriva C100 (NS4) nu afectează răspunsul la IFN. Problema apare la pacienții cu **dublă infecție VHC și HIV** la care anticorpul anti C100-3 dispar. Aceasta s-ar datora incapacității persoanelor infectate HIV de a produce anticorpi împotriva VHC, cel puțin la niveluri detectabile.

Detectarea anticorpilor în convalescența unei hepatite C acute autolimitante trebuie să devină negativă după 1 - 4 ani. Persistența anticorpilor indică o infecție VHC cronică.

Diagnosticul hepatitei cu VHC impune detectarea infecției VHC și a replicării virale, asociate markerilor de afectare hepatică:

	INCUBAȚIA	FAZA ACUTĂ	CONVALESCENȚA	FAZA CRONICĂ
VHC	++	++	+/-	++
ARN				
Anti-C22	-	-/+	+	++
Anti-E1	-	-	+	-
Anti-E2	-	-/+	-	+/-
Anti-C33	-	-/+	-	+
Anti-C100	-	-/+	-	+/-

Aceste date demonstrează faptul că detectarea separată a anticorpilor împotriva diferitelor proteine virale poate avea semnificație clinică și terapeutică în studiul infecției cu VHC. Semnificația terapeutică va fi detaliată într-un articol următor.

BIBLIOGRAFIE

1. Barrera J.M., Ercilla M.G., Francis B., et al.: Detection of anti-HCV antibodies (third generation) and HCV-RNA in seroconversion of acute hepatitis C. *Hepatology* 20; 1994
2. Blum H.E.: Does hepatitis C virus cause hepatocellular carcinoma?, *Hepatology* 251 - 55; 19; 1994
3. Bonino F., Brunetto M.R., Negro F., Baldi M., Saracco G., Abate M.L., Fabiano A., Verme G.: Hepatitis C virus infection and disease. Diagnostic problems. *Journal*

of *Hepatology* 1993; 17 (Suppl. 3): S78 - 82

4. **Colombo M., Romeo R.:** Hepatitis C virus infection and hepatocellular carcinoma, *Primary liver cancer: etiological and progression factors*, 49 - 55, 1994

5. **Frangeue L.:** Pattern of HCV antibodies with special reference to NS5A reactivity in HCV-infected patients: relation to viral genotype, cryoglobulinemia and response to interferon, *Falk Symposium, Prague*, 1998

6. **Kotwal G.J.:** Routine laboratory diagnosis of hepatitis C virus infection, *Journal of Hepatology*, 1993; 17 (Suppl. 3):

S83 - 89

7. **Johnson Yiu-Nam Lau:** Hepatitis C protocols, 131 - 235, 1998

8. **Miyamura T.:** Analysis of the hepatitis C virus genome and hepatocellular carcinoma, *Primary liver cancer: etiological and progression factors*, 125 - 36, 1994

9. **Smith D.B. et al.:** *Journal of General Virology*, 76, 1749 - 1761; 1995

10. **Voiculescu M.:** Actualități în hepatologie, 59 - 79, 1996

PRIMA CONFERINȚĂ NAȚIONALĂ DE CHIMIOTERAPIE ANTIBACTERIANĂ, ANTIFUNGICĂ ȘI ANTIVIRALĂ 22 - 24 septembrie 1999 - Iași

Prof. Dr. Mihai Nechifor - Catedra de Farmacologie UMF, „Grigore T. Popa“ Iași

În zilele de 22 - 24 septembrie 1999 a avut loc la Iași *Prima Conferință Națională de Chimioterapie Antibacteriană, Antifungică și Antivirală* în organizarea Societății Române de Studiu al Chimioterapicelor, Universitatea de Medicină și Farmacie „Gr. T. Popa“ Iași și S.C. Antibiotice S.A. Iași.

Conferința și-a propus să ofere o imagine de ansamblu asupra chimioterapicului antibacterian, antifungic și antiviral de la sinteza sau biosinteza și până la efecte secundare și raport cost benefic.

Manifestarea a reunit peste 220 de specialiști din toate centrele universitare românești cu preocupări în acest domeniu al științei și practicii medicale, medici din mai multe spitale județene, precum și o delegație de 10 participanți de la Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „N. Testemitanu“ din Chișinău. Conferința a cuprins 110 lucrări din domenii cum ar fi chimia antibioticelor, sinteza și biosinteza, condiționarea, farmacologia preclinică și clinică, toxicologia, aplicarea terapeutică în diferite domenii ale practicii medicale (Clinica de boli infecțioase, chirurgie digestivă și maxilobucofacială, oftalmologie, ORL, pediatrie, pneumofiziologie etc.).

În cadrul manifestării au fost prezentate conferințe cu teme cum ar fi:

- Progrese în farmacologia antibioticelor beta-lactamice - prof. dr. Mihai Nechifor, UMF „Gr. T. Popa“ Iași
- Tendințe și strategii în cercetarea și fabricarea penicinelor și cefalosporinelor - ing. dr. Eugen Diaconu, director de cercetare a S.C. Antibiotice S.A. Iași
- Actualități în terapia infecției respiratorii - prof. dr. D. Cristina și dr. Ioana Cucuianu, UMF „Iuliu Hatieganu“ Cluj-Napoca
- Evoluția rezistenței la antibiotice a enterobacteriilor izolate în estul României în ultimii 30 de ani - prof. dr. Elena Hatieganu, Universitatea „Ovidius“ Constanța
- Sensibilitatea celor mai frecvente bacterii patogene față de principalele grupe de antibiotice - dr. V. Ordeanu, dr. F. Paul, prof. dr. V. Voicu, București
- Actualități în terapia infecțiilor sistemice grave - prof. dr. Vasile Luca, Clinica de Boli Infecțioase, Iași
- Progrese în cercetarea și utilizarea terapeutică a agenților antibacterieni cu structura de beta-lactame netradiționale - cercetător dr. Cristina Vlase, S.C. Antibiotice S.A. Iași
- Particularități farmacocinetice ale antibioticelor în sarcină - prof. dr. Florica Popescu, Universitatea de Medicină, Craiova.

Delegația Universității de Stat de Medicină și Farmacie „N. Testemitanu“ din Chișinău, condusă de prof. dr. V. Ghicavii și prof. dr. V. Prisecari, a prezentat lucrări legate de terapia unor infecții digestive, activitatea antibacteriană și antimicotică a unor compuși vegetali și elemente de chimioprofilaxie antibacteriană în practica chirurgicală.

Lucrările conferinței s-au desfășurat în patru secțiuni și au cuprins pe lângă conferințe 60 de comunicări orale și 43 lucrări prezentate poster.

Dintre problemele de mare actualitate cu implicații teoretice și practice care au fost prezentate menționăm discutarea avantajelor și indicațiile celei de-a patra generații de cefalosporine, progresele în sinteză de noi inhibitori de betalactamaza (tazobactame etc.), avantaje și dezavantaje în utilizarea chinolonelor de ultima

generație, influența benefică a unor inhibitori de betalactamaze asupra funcției imunitare a unor celule imunocompetente, propuse în domeniul carbapenemelor, perspectivele polipeptidului inhibitor de betalactamaza BLIP, probleme legate de extinderea rezistenței bacteriene prin betalactamaze cu spectru extins, metalodependente.

Plecând de la constatarea practică în care s-a observat că circa 30% din eșecurile terapiei antibacteriene se datorează problemelor de farmacocinetică s-au prezentat mai multe progrese și clarificări în acest domeniu.

A fost discutată, de exemplu, influența pompei glicoproteice de eflux a antibioticului din celula mucoasei intestinale și perspectivele blocării ei cu diferiți agenți, asupra creșterii biodisponibilității antibioticelor administrate per os, interacția dintre antibiotice și ATP-azele din celulele mucoaselor digestive, influența antibioticelor asupra vitezei de golire a stomacului și asupra funcțiilor intestinale etc.

S-au discutat variate aspecte ale administrării antibioticelor în infecțiile sistemice grave, precum și variațiile în timp ale rezistenței bacteriene la chimioterapie.

S-a acordat atenție efectelor secundare ale chimioterapiei antibacteriene atât sub aspectul unor studii privind incidența clinică a acestor efecte (prof. dr. V. Luca și colaboratorii, Prof. Dr. M. Nechifor și colaboratorii) cât și acțiuni ale chinolonelor în convulsiile pentetrazolice experimentale (prof. dr. V. Sandor și colectivul din Cluj).

Patogenia unora dintre manifestările clinice ce apar în infecția bacteriană, asociațiile dintre chimioterapicele antibacteriene, incidența rezistenței la antibiotice la diferite tipuri de bacterii, terapia puls cu derivați imidazolici în onicomicoze au fost alte subiecte de interes.

Patologia iatrogenă apărută în urma administrării unor chimioterapice antibacteriene a constituit subiectul altor lucrări (prof. dr. Rodica Cîncă și colaboratorii, Timișoara și prof. dr. E. Ștefănescu și colaboratorii, Constanța).

Indicațiile, limitele și avantajele antibioprolaxiei în chirurgia digestivă și în obstetrică a format obiectul unor comunicări ale colectivelor D. Urzica și colaboratorii, Iași și Cușnir și colaboratorii, Chișinău.

În cadrul conferinței a avut loc lansarea cărții: „Actualități în chimioterapia antibacteriană” sub redacția prof. dr. Mihai Nechifor și ing. Dr. Eugen Diaconu apărută în Editura „Timpul” din Iași. Lucrarea a fost prezentată de prof. dr. Mihai Lazăr, Facultatea de Farmacie UMF „Gr. T. Popa” Iași și prof. dr. V. Scurtu, Director al Spitalului Clinic de Boli Infecțioase Iași.

Conferința s-a desfășurat în cadrul pus cu generozitate la dispoziție de S.C. Antibiotice S.A. Iași (primul producător de antibiotice din România) și a fost onorată de prezența conducerii Agenției Naționale a Medicamentului și de numeroase personalități ale vieții științifice românești.

A avut loc și **adunarea generală a Societății Române de Studiu al Chimioterapicelor (SRSC)**, care a aprobat statutul societății științifice ce își propune să determine un progres mai accentuat și o viziune mai unitară asupra acestui domeniu atât de important al științei și practicei medicale contemporane.

A fost votat statutul societății și s-au făcut propuneri de afiliere la forul european de profil. Aliniindu-se și în acest domeniu practicii internaționale și realității din marea majoritate a țărilor europene, comunitatea științifică românească urmărește ca această societate să constituie cadrul adecvat reunirii eforturilor tuturor celor interesați în acest domeniu precum deschiderea unor noi perspective cu societățile de profil din întreaga lume.

Președinte al societății a fost ales prof. dr. M. Nechifor (Iași), iar membrii comitetului director sunt personalități din mai multe centre universitare din România precum și din Chișinău.