

Diagnosticul de laborator în hepatite și SIDA

O înțelegere clară a hepatitei virale este esențială pentru toți medicii stomatologi, în special în ceea ce privește sechelele grave ale bolii și potențialul de transmitere a infecției în clinica dentară.

Hepatita se poate datora mai multor cauze, precum infecții, abuz de alcool, traume sau toxicitate indusă de droguri.

Cu toate acestea, în termeni globali, infecțiile virale sunt de departe cel mai important agent al hepatitei. Acestea includ infecții cu virusul herpes simplex, citomegalovirus și virusul Epstein-Barr, dar marea majoritate a bolilor hepatice virale sunt una dintre următoarele:

- hepatita A (hepatita infecțioasă, hepatită cu period de incubație scurtă)
- hepatita B (hepatita serică)
- hepatita C
- hepatita D (hepatita delta)
- hepatita E (hepatită transmisă enteric)
- hepatita G

Acestea pot fi clasificate în două grupuri, în funcție de calea de transmitere virală:

- calea fecal-orală: hepatita A și hepatita E (foarte puțin probabil să fie transmise în stomatologie)
- calea parenterală: hepatita B, C, D și posibil hepatita G (pot fi transmise în stomatologie)

Virusurile hepatitelor B, C și D se pot transmite trasplacentar (de la mamă la făt), posttransfuzional, pe cale sexuală. O cale importantă de transmitere este reprezentată de manoperele invazive medicale (prin ace de seringă, manopere chirurgicale, endoscopii, cateterisme, dializă, extracții dentare și alte manopere chirurgicale sângerânde)

Hepatita B

Virusul hepatitei B este un virus AND, anvelopat ce aparține familiei Hepadnaviridae. Perioada de incubație este de 4-26 săptămâni.

Virusul în general poate prezenta două forme diferite:

- particulă completă (particula Dane-formată din nucleocapsidă și anvelopă)
Capsida prezintă doi constuienți antigenici:AgHBe și AgHBc. AgHBc poate fi identificat prin tehnici imunohistochimice, în urma puncției biopsie hepatică. AgHBc este clivat intrahepatocitar rezultând AgHBe.

- particula incompletă, lipsită de acid nucleic, format exclusiv din AgHBs. La nivelul anvelopei se găsește cel de-al treilea antigen, cel de suprafață (AgHBs).

Prezența virusului în organism determină un răspuns imun de tip umoral caracterizat prin sinteza de anticorpi împotriva tuturor celor trei antigene: Ac anti-HBs, Ac anti-HBc, Ac anti-HBe.

Primele semne ale unei infecții cu virus hepatitic sunt modificările unor parametri biochimici: creșterea marcată a enzimelor hepatice-GOT și GPT, dar și creșterea markerilor colestazei-fosfataza alcalină și GGT. Electroforeza arată creșterea fracțiunilor gama și beta-globulinică și scade fracțiunea albuminică. Deasemenea se evidențiază tulburări ale metabolismului pigmentilor biliari (urobilinogen urinar).

Diagnosticul direct

Se recoltează sânge, probe de biopsie hepatică. Evidențierea virusului în.

- Secțiuni hepatice se evidențiază prin ME particolele virale și prin IF antigenele virale
- Sânge se evidențiază prin ME, IEM particolele Dane, antigenul de suprafață

Diagnosticul serologic

- AgHBs se poate evidenția prin: hemaglutinarea pasivă inversă, RIA (radioimmunoassay), testul imunoenzimatic ELISA (enzyme linked immunosorbent assay)
- AgHBe prin reacția ELISA
- AC anti HBe- IgM anti-HBe depistare prin ELISA și confirmare prin RIA
- AC anti HBc- IgM anti-HBc depistare prin ELISA și confirmare prin RIA
- AC anti HBs depistare prin imunodifuzie în gel, contrimunoelectroforeză, hemaglutinare pasivă indirect, ELISA, RIA.

Tabel nr. Semnificația markerilor infecției cu VHB

Markerul infecției cu VHB	Semnificație diagnostică
AgHBs	Purtător VHB, nu este de fiecare dată infectiv
AgHBe	VHB în stare replicativă, infectivitate
AgHBc în țesuturi	VHB în stare replicativă, infectivitate
Ac anti-HBc IgM	Infecție activă sau reinfecție. Infecția cu VHB se poate croniciza

Ac anti-HBc IgG	Persistența infecției dacă titrul este mare Vindecarea (instalarea imunității) dacă titrul este mic și este asociat cu Ac anti-HBs
Ac anti-HBs	Vindecarea (imunitate)
Ac anti-HBe	Dispariția infectivității

Hepatita C

Virusul hepatitei C este un virus ARN, anvelopat cu o perioadă de incubație de 2-20 săptămâni. Aparține familiei Flaviviridae. Majoritatea hepatitelor posttransfuzionale se datorează VHC.

Testele ELISA au o sensibilitate și specificitate crescută, ele evidențiază anticorpii în raport cu proteinele structural sau nonstructurale ale virusului.

Tehnica RIBA(recombinant immunoblotting assay) sau tehnica imunoamprentelor se folosește pentru evitarea reacțiilor fals positive.

Confirmarea infectivității se face prin amplificare genică și decelarea ARN/HCV în plasmă.

Tabel nr. VHC-markerii infecției

Detectarea Ac anti VHC- test screening
Detectarea ARN VHC – teste de confirmare
Genotiparea VHC utilă pentru a aprecia prognosticul și răspunsul la tratament

Hepatita D

Virusul hepatitei D este un virus ARN anvelopat. Nu se poate multiplica decât în prezența virusului hepatitei B deoarece este un virus incomplete. Perioada de incubație este de 2-12 săptămâni. Se poate transmite concomitant cu VHB (coinfecție) sau se poate transmite la o persoană infectată anterior cu HBV(suprainfecție).

Tabel nr. VHD-markerii infecției

AgHBs prezent
AgHD prezent

Ac anti-HD totali
Ac anti-HD de tip Ig M –infecție acută cu VHD
Ac anti-HD de tip Ig G – infecție cronică cu VHD
Detectare ARN-VHD prin PCR

Metodele de diagnostic utilizate pentru evidențierea markerilor specifici VHD sunt ELISA, RIA.

Hepatita A

Virusul hepatitei A este un virus ARN, neanvelopat ce aparține familiei Picornaviridae. Se transmite pe cale fecal-orală și se elimină prin materiile fecale. Perioada de incubație este de 2-7 săptămâni (media 30 zile).

Diagnosticul constă în evidențierea virusului în filtratul de materii fecale prin ME. Diagnosticul serologic evidențiază Ac anti-VHA de clasă Ig M care semnifică o infecție acută și cei de clasă IgG care apar în convalescență și care confer protecție. Metodele de diagnostic utilizate sunt ELISA, RIA.

Hepatita E

Virusul hepatitei E este un virus ARN neanvelopat , aparținând familiei Caliciviridae. Se transmite pe cale fecal-orală prin consum de apă contaminată.

Evidențierea virionilor în filtratul de materii fecale prin ME și identificarea prin IEM. Evidențierea anticorpilor anti-VHE se face pentru detectare prin ELISA iar pentru confirmare RIA. De asemenea poate fi diagnosticată infecția prin Western blot și PCR assay.

Infecția HIV

Virusul imunodeficienței umane dobândite (HIV) este un retrovirus cu perioada de incubație lungă (7-10). Este un virus ARN, a cărui capsidă învelește cele două catene identice de ARN și subunitățile reverstranscriptazei. Aici sunt prezenți cei doi determinanți antigenici majori (p24 și p25) utili în diagnosticul de laborator.

La nivelul anvelopei sunt mai mulți determinanți antigenici majori, cu structură proteică (gp120, gp41, p18). Aceste structuri proteice prezintă o mare variabilitate

care permite apariția de subtipuri cu noi proprietăți antigenice numite mutante. Structurile țintă primare ale virusului sunt monocitele și limfocitele T helper (Th).

Infecția parcurge următoarele etape:

- Infecția acută este frecvent asimptomatică sau simptomele pot mima o mononucleoză infecțioasă (hepatosplenomegalie, adenopatie generalizată) sau o infecție cu citomegalovirus (encefalopatii, neuropatii, erupții cutanate)
- Stadiul cronic poate fi și el uneori asimptomatic. În acest stadiu apar semnele și simptomele patognomonice (lifeladenopatie generalizată, diaree apoasă care trenează mai mult de o lună, febră ($>38^{\circ}\text{C}$), scădere în greutate. În această etapă a bolii sunt frecvente infecțiile cu germeni oportuniști (Candida) și leucoplakie păroasă a limbii
- ARC (AIDS Related Complex) este a treia etapă a bolii în care se evidențiază cel puțin două semne patognomonice descrise în etapa de infecție cronică
- Sindromul imunodeficienței dobândite (SIDA) se caracterizează prin creșterea frecvenței infecțiilor cu germeni oportuniști cu risc vital (Cryptosporidium parvum, Toxoplasma gondii, Strongyloides stercoralis, Mycobacterium spp), apariția stărilor precanceroase (leucoplakia păroasă a limbii), a leucemiilor și tumorilor solide (sarcom Kaposi, limfoame maligne). Sunt descrise cu frecvență mare cariile și abcesele dentare.

Examenle de laborator pun în evidență modificări nespecifice. Hemoleucograma evidențiază pancitopenie, uneori severă (leucopenie cu limfopenie, anemie, trombocitopenie). În context clinic sugestiv se completează diagnosticul de laborator cu teste serologice specifice, care pun în evidență antigenele și anticorpii virali.

Primul pas în serodiagnostic este testul ELISA sau teste screening de aglutinare pentru anticorpii serici. Până la aproximativ 2% din testele ELISA sunt fie fals pozitive, fie fals negative: prin urmare, un ELISA pozitiv trebuie testat în eșantioane duplicate. Dacă două sau mai multe din ultimele trei rezultate ELISA sunt pozitive, testarea confirmatorie trebuie făcută printr-un test Western blot.

Principiile și etica diagnosticului sunt:

- aplicați minimum două metode de diagnostic diferite
- repetați testul 2-3 luni mai târziu, deoarece există o perioadă de timp (numită fereastră serologică) între dobândirea infecției și dezvoltarea anticorpilor
- Nu divulgați rezultatele pozitive până la confirmarea cu o altă metodă de diagnostic. Mențineți confidențialitatea rezultatelor în permanență

Alte metode de diagnostic de laborator includ:

- izolarea virusului în limfocite din sângele periferic: o metodă limitată la laboratoarele de cercetare, datorită faptului că este laborioasă și necesită un timp îndelungat
- detectarea acizilor nucleici virali sau a antigenelor prin reacția de polimerizare în lanț -PCR (foarte utilă pentru detectarea HIV la nou-născuți, deoarece plasma lor este contaminată cu anticorpi HIV de la mamă). O încărcătură virală ridicată în plasmă persoanelor infectate determină o evoluție mai rapidă la SIDA decât o încărcătură virală scăzută