

616.988.52:576.8.095.38:616-076.4

POZNATKY Z KOMPLEXNÍHO VYŠETŘOVÁNÍ NOSIČSKÝCH STAVŮ VIRU HEPATITIDY B U MLADÝCH JEDINCŮ

Plk. MUDr. Ludvík KOSTRHUN, MUDr. Alexandra SEICHERTOVÁ, CSc.

Infekční oddělení Ústřední vojenské nemocnice, Praha

(náčelník: plk. MUDr. Ludvík Kostrhun)

Vojenský ústav hygieny, epidemiologie a mikrobiologie, Praha

(náčelník: plk. MUDr. Vladimír Kotlář, CSc.)

Klinická a epidemiologická problematika nosičství antigenních struktur viru hepatitidy B (HBV) je stále neuzavřeným problémem. Až dosud jsou velmi rozdílné názory na rizikovost těchto stavů pro okolí a závažnost pro vlastní zdravotní stav postiženého jedince [1, 13].

Zjištění pozitivitu povrchového antigenu hepatitidy B (HBsAg) má samo o sobě dle novějších poznatků jen částečnou informační hodnotu.

V posledních letech dochází ke stále většímu využívání virologických a imunoanalytických metod v diagnostice virových hepatitid [3]. Naskytá se tak možnost vyjádření se k aktuální infekci i možné prognóze, zvláště u nosičských stavů spojených s chronickou hepatopatií.

Na infekčním oddělení ÚVN jsme měli možnost využít pro rutinní diagnostiku hepatitidy B (HB) a stavů jejího nosičství vyšetření krevního séra a ultratenkých řezů jehlových biopsií jater (JB) elektronovým mikroskopem. Pokusili jsme se tak zkomplexnit dosavadní vyšetřovací postup a analyzovat situaci zvláště u mladých nosičů HBsAg [2, 10, 12].

Materiál a metodika

U 40 nemocných (38 mužů a 2 žen) s průměrným věkem 23,7 roků sledovaných pro nosičství HBsAg v rámci dispenzarizace jsme do vyšetření zahrnuli:

- anamnézu s cíleným zaměřením na nejčastější epidemiologické faktory kontaktu s HB,
- fyzikální a standardní biochemické vyšetření,
- scintigrafické vyšetření jater a sleziny po aplikaci Tc99m,
- elektronmikroskopické vyšetření séra na přítomnost Daneových částic (DČ) a specifických imunokomplexů HBsAg (IK),
- elektronmikroskopické vyšetření vzorků jaterní tkáně získaných necílenou jehlovou biopsií,
- běžné histologické vyšetření druhé poloviny takto získaného vzorku jaterní tkáně.

Ve 23 případech bylo provedeno vyšetření e-antigenu HBV (HBeAg) metodou RIA (soupravy Abbott).

U všech nemocných zahrnutých do souboru

byla pozitivita HBsAg prokázána nejméně 3×, většinou enzymoimunoanalýzou (EIA) — použity soupravy Seatest ELISA ÚSOL.

Detailní metodický postup přípravy sér a ultratenkých řezů pro EM vyšetření byl již podrobně popsán [2, 10, 16].

Výsledky provedených vyšetření jsme navzájem porovnali a vztáhli k základní histologické diagnóze a k délce trvání nosičského stavu.

Jako diagnostická kritéria pro asymptomatické nosičství (AN) jsme použili:

- žádné subjektivní potíže
- normální fyzikální nálezy na játrech a normální hodnoty transferázy ALT
- normální scintigrafický nálezy, ev. lehce nehomogenní distribuci
- negativní nálezy DČ, ev. jejich podíl do 0,5 % (při jednorázovém vyšetření)
- nepřítomnost nukleokapsidů HBV v jádrech hepatocytů
- negativní HBeAg.

Jako diagnostická kritéria rizikového nosičství (RN) jsme použili:

- vyšší proporci DČ, ev. vázanou na výskyt IK
- pozitivní nálezy nukleokapsidů HBV
- pozitivní HBeAg
- přítomnost objektivních známek chronické hepatopatie (zvýšení ALT, ELFO, nepřímého bilirubinu nebo závažnější nálezy na scintigrafii).

Pro stanovení epidemiologické diagnózy jsme za rozhodující považovali přítomnost DČ v krevním séru ve vyšší proporci, nálezy nukleokapsidů v jádrech hepatocytů a pozitivní HBeAg.

Diagnózu jsme považovali za jistou při souhlasu nejméně dvou z uvedených kritérií. V případě nesouhlasu jsme hodnotili jako stav vyžadující dalšího sledování.

Výsledky

Přehledně uvádíme v tabulce 1 a 2.

Ve vysvětlivkách jsou uvedeny způsoby hodnocení jednotlivých vyšetření.

V cílené anamnéze bylo zjištěno:

- prodělaná HB 4× (10 %)
- injekční aplikace léků nebo odběr krve v posledních 3 měsících 18× (45 %)

Tab. I

Nosičské stavy HBV

Č.	Nemocný	Nar.	Trvání nosič. v měs.	EM			Scinti	Hist.	HBeAg	Závěrečná diagnóza
				JBj	DČ	IK				
1	H. F. m.	1931	12	—	+	—	+	++	—	CPH AN (?)
2	Z. J. m.	1960	6	—	+	—	+	—	—	AN (?)
3	F. L. m.	1960	12	—	—	—	—	—	—	AN (?)
4	N. J. m.	1960	6	—	—	—	+	+	—	CPH AN (?)
5	K. B. m.	1961	6	—	—	—	+	—	—	AN
6	S. K. m.	1952	12	—	+	—	+	++	+	CPH RN (?)
7	H. M. m.	1960	12	—	—	—	—	+	—	CPH AN
8	H. S. m.	1962	12	—	++	+	—	+	—	CPH RN (?)
9	H. F. m.	1961	12	+	+	—	—	—	+	RN
10	K. Z. m.	1961	12	+	—	—	+	—	—	? ?
11	H. Z. m.	1960	12	—	—	—	+	++	—	CPH AN (?)
12	M. V. m.	1951	12	—	+	—	+	+	—	CPH RN (?)
13	H. J. m.	1960	12	—	+	+	—	—	—	AN (?)
14	K. L. m.	1960	12	—	—	—	—	+	—	CPH AN (?)
15	L. M. m.	1955	24	+	+++	++	++	++	+	CAH RN
16	F. J. m.	1957	24	+	—	—	+	+	+	CPH RN
17	L. V. m.	1961	6	—	—	—	—	—	—	AN
18	P. A. m.	1961	12	—	—	—	+	+	—	CPH AN (?)
19	Ž. J. m.	1960	12	—	—	—	—	—	—	AN
20	G. P. m.	1962	12	+	—	—	+	+	+	CPH RN
21	K. I. m.	1962	6	—	—	—	—	—	—	AN
22	J. F. m.	1956	6	—	—	—	+	+	—	CPH AN
23	Š. Z. m.	1963	12	—	—	—	+	++	+	CPH RN
24	G. M. m.	1962	6	—	—	—	—	—	—	AN
25	M. J. m.	1962	12	—	—	—	—	+	—	CPH AN (?)
26	G. I. m.	1959	6	—	—	—	+	—	—	AN
27	P. P. m.	1955	12	—	+	+	+	+	—	CPH AN (?)
28	M. Z. m.	1961	12	—	+	—	+	+	—	CPH RN (?)
29	R. L. m.	1962	12	—	—	—	+	+	—	CPH AN
30	B. P. m.	1963	12	—	+	—	++	+	—	CPH AN (?)
31	N. J. m.	1963	6	—	—	+	—	—	—	AN
32	K. P. m.	1958	24	—	++	+	++	++	+	CAH RN
33	S. J. m.	1960	6	—	—	—	++	+	+	CPH RN
34	S. F. m.	1964	12	—	—	—	+	—	—	CPH AN
35	H. J. m.	1966	24	++	++	++	++	++	+	CAH RN
36	M. M. m.	1964	12	—	—	—	+	++	—	CAH AN
37	M. M. m.	1963	12	—	+	—	—	+	—	CPH AN (?)
38	K. D. ž.	1962	24	++	+++	+	+	++	+	CAH RN
39	P. J. ž.	1952	24	—	—	++	+	++	+	CAH RN
40	R. J. m.	1948	12	—	+	—	—	++	—	NRHAN (?)

pro všechna vyšetření: — : negativní nález

EM-JBJ : elektronmikroskopicky vyšetřené jehlové biopsie jater

+ : nukleokapsidy v některých jádrech hepatocytů jednotlivě nebo ve skupinách

++ : nukleokapsidy ve většině jader hepatocytů ve shlucích

EM-DČ : elektronmikroskopicky vyšetřené sérum na přítomnost Daneho částic

+ : DČ ojedinelé, do 0,5 % všech částicových forem HBsAg

++ : DČ přítomny v podílu 0,5—2 %

+++ : DČ přítomny v podílu od 2 %

EM-İK : imunoelktronmikroskopické vyšetření séra

+ : nalezen alespoň jeden malý imunokomplex HBsAg (5—30 částic)

++ : nalezeny malé nebo střední komplexy (30—100 částic)

scinti : scintigrafické vyšetření jater a sleziny

+ : nehomogenní distribuce, hraniční nález

++ : známky chronické difúzní hepatopatie

hist. : histologické vyšetření vzorku necílené jaterní biopsie

+ : chronická perzistující hepatitida (CPH)

++ : chronická aktivní hepatitida (CAH)

AN : asymptomatický nosič (nerizikový, nezávažný)

RN : rizikový nosič (symptomatický, epidemiologicky závažný)

? : nosičské stavy, které nelze jednoznačně uzavřít – vyžadující další sledování

NRH : nespecifická reaktivní hepatitida

Tab. 2

Vztah klinické a epidemiologické diagnózy k délce trvání nosičství HBsAg po jednorázovém komplexním vyšetření

Dg. závěr kompl. vyš.		Trvání nosičského stavu v měsících			Celý soubor (n=40)
		6 (n=10)	12 (n=24)	24 (n=6)	
klin.	CPH	3 (30 %)	17 (70,8 %)	1 (16,6 %)	21 (52,5 %)
	CAH	0	1 (4,2 %)	5 (83,3 %)	6 (15 %)
epidem.	AN	9 (90 %)	14 (58,3 %)	0	23 (57,5 %)
	RN	1 (10 %)	8 (33,3 %)	6 (100 %)	15 (37,5 %)
Nejasný závěr			2 (8,3 %)		2 (5 %)

- hospitalizace, chirurgické výkony 6× (16,2 procenta)
- stomatologické ošetření 4× (10 %)
- negativní anamnéza 8× (20 %).

U 25 nemocných byl nosičský stav zachycen v rámci vyšetření na transfúzní stanici před odběrem krve. Subjektivně nikdo neměl výraznější dyspeptické potíže. Tlak pod pravým podžebřím po námaze udávalo 6 (15 %), únavnost a slabost po tělesné námaze 5 (12,5 %), občas tmavou moč 4 (10 %).

Při fyzikálním vyšetření jater jsme nezjistili výraznější hepatomegalii ani při porovnání se scintigrafickým vyšetřením. Při vyšetření moče na žlučová barviva byl u 8 nemocných zjištěn lehce pozitivní urobilinogen. Hladina nepřímého bilirubinu nepřesáhla u celého souboru 22,5 mmol/l. Sérová transferáza ALT vykazovala u celého souboru průměr 0,48 ukat/l. Gama-globulinová frakce ELFO pak 0,21 rel. %.

Výsledky jednotlivých vyšetření, uvedených v tabulce 1 (mimo HBeAg), byly porovnány a zpracovány chí-kvadrát testem. V 7 případech (EM/NJB — EM/DČ; EM/NJB — scintigrafie; EM/NJB — histologie; EM/DČ — scintigrafie; EM/DČ — histologie; EM/IK — scintigrafie; EM/IK — histologie) zjištěna vzájemná významná korelace.

Ve 3 případech (EM/NJB — IK; EM/DČ — IK; scintigrafie — histologie) zjištěn významný rozdíl na 5% hladině významnosti.

Porovnání získaných nálezů je pozoruhodné zejména u 6 nemocných (tabulka 1 — č. 15, 16, 32, 35, 38 a 39), kde u všech histologický nález svědčil pro závažnější hepatopatii — chronickou aktivní hepatitidu (CAH). Délka trvání nosičského stavu zde byla nejméně 24 měsíců. Výsledky provedeného komplexního vyšetření navzájem dobře korelují. Rovněž znaky rizikovitosti nosičského stavu včetně HBeAg jsou u všech pozitivní.

U skupiny nemocných s délkou trvání nosičství 12 měsíců již nejsou nálezy při porovnání tak jednoznačné. Závažnější hepatopatie (CAH) byla zjištěna pouze v jednom případě (nemoc-

ný č. 36), a to bez znaků rizikového nosičství. Ve dvou případech (nemocný č. 10 a č. 36) byla interpretace výsledků vyšetření zcela nejasná. V jednom případě byl nalezen histologický obraz nespecifické reaktivní hepatitidy (NRH).

Nápadné je vysoké procento chronické perzistující hepatitidy (52,5 %) u celého souboru.

Při EM vyšetření NJB, zpracovaných metodou ultratenkých řezů, jsme našli v játrech hepatocytů nukleokapsidy (NK) VHB u 17,5 %, tj. u 7 nemocných. NK jsou 21–25 nm kulovité neobalené částice s tenkou limitující membránou, která jim dává prstenčitou podobu. Vyskytují se jednotlivě, ve skupinách a ve velkých shlucích. U některých nemocných jsou nalézány v cytoplasmě a v rozšířeném endoplazmatickém retikulu vláknů, která považujeme za korelát v séru nalézáných vláken HBsAg.

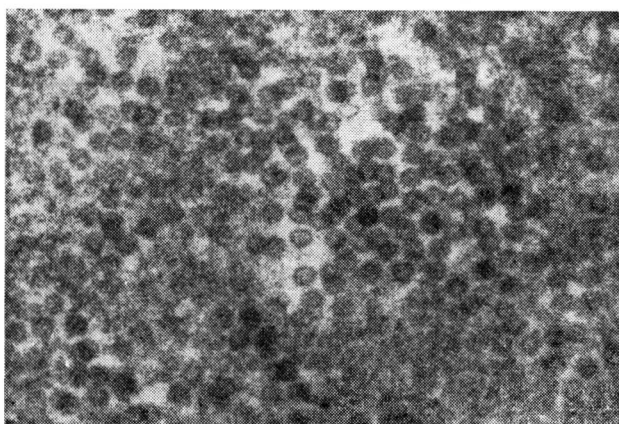
Získané výsledky a poznatky nás opravňují k závěru, že i u mladých jedinců — nosičů HBsAg — je nutno stanovit diagnózu velmi obezřetně, a to až tehdy, když jsou k dispozici výsledky komplexnějšího vyšetření, provedeného různými metodickými přístupy. Náhorně to dokumentuje nemocný č. 35 (tabulka 1).

H. J., nar. 1966, branec, č. chor. 2045/57 inf., prodělal zřejmě v r. 1975 inaparentní formu HB (současně ústavně verifikované onemocnění u matky). Do r. 1984 sledován pro hyperbilirubinémii a kolísavé zvýšení ALT, subjektivně pouze únavový syndrom. 18.10.1984 zjištěn pozitivní HBsAg v RIA. Při vyšetření NJB diagnostikována CAH. Při vyšetření EM výrazně pozitivní nález NK ve shlucích. Vyšetření séra EM a IEM vykazuje 3 % DČ, pozitivní IK. HBeAg pozitivní.

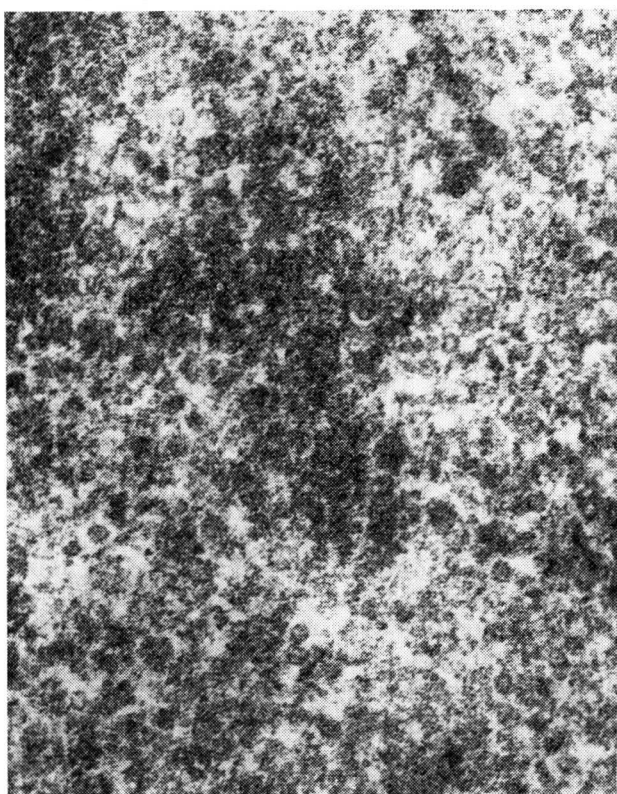
Závěr: Produktivní replikace HBV s vyznačenou imunologickou odpovědí. Rizikové závažné nosičství HBV.

U nemocné č. 38 jsme měli již možnost provedení kompletního vyšetření imunochemických znaků metodou RIA.

K. D., nar. 1962, zdravotní laborantka, č. chor. 12442/85 inf., prodělala v r. 1983 akutní HB jako profesionální onemocnění s vleklým průběhem, takže byla zahájena steroidní léčba. Podařilo se potlačit zánětlivou aktivitu onemocnění. Koncem r. 1984 provedeno EM vyšetření



Obr. 1. Nukleokapsidy (NK) — kulovité neobalené částice s tenkou limitující membránou, která jim dává prstenčitou podobu

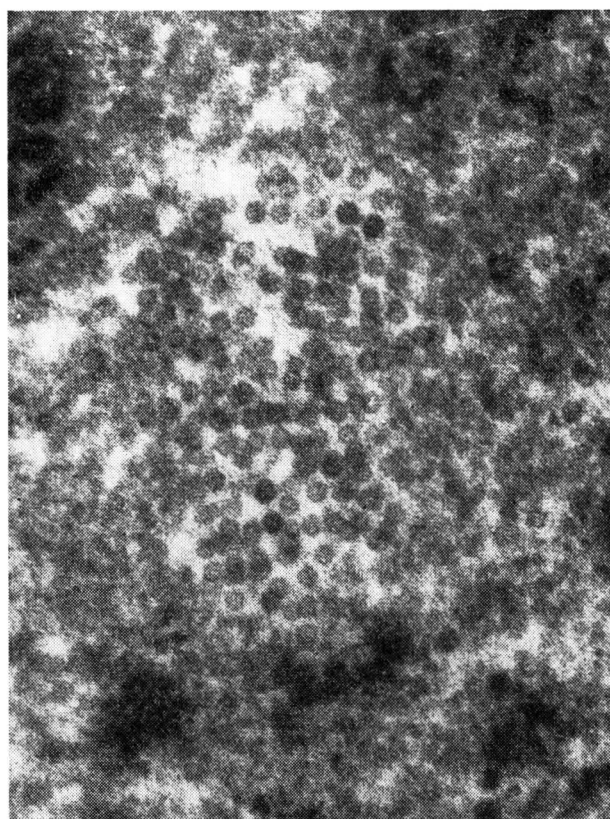


Obr. 2. NK vyskytující se jednotlivě

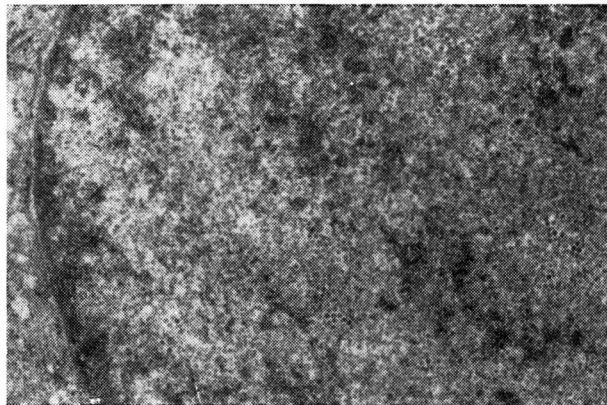
séra s nálezem 5 % DČ a výrazně pozitivními IK. Současně provedeno imunochemické vyšetření RIA metodou: HBsAg pozitivní, anti-HBs negativní, HBeAg pozitivní (IP = 4,57), anti-HBe negativní, anti-HBc pozitivní (IP = 40,03). V prosinci 1985 provedena NJB. Histologický nález: chronická aktivní hepatitida. Vyšetření EM: nález NK ve šlucích. Imunochemie HB: HBsAg pozitivní, anti-HBs negativní, HBeAg pozitivní (IP = 3,7), anti-HBe negativní, anti-HBc pozitivní (IP = 37,0).

Závěr: Chronická aktivní hepatitida. Rizikový nosičský stav s nepříznivou prognózou.

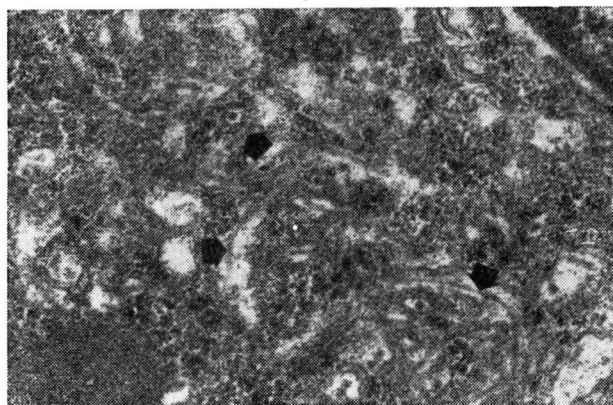
Získané poznatky potvrzují, že s délkou trvání nosičství HBV přibývá v některých přípa-



Obr. 3. NK ve skupinách



Obr. 4. NK ve velkých shlucích



Obr. 5. Vláknina považovaná za korelát v séru nalézáných vláken HBs Ag (u některých pacientů v cytoplazmě a v rozšířeném endoplazmatickém retikulu)

dech znaků produktivní virové replikace a v důsledku toho i závažnosti dalšího vývoje chronické hepatopatie. Tyto stavy bývají sdruženy s rizikovým, epidemiologicky závažným nosičstvím HBV.

Diskuse

Nosičským stavem HBV rozumíme v dnešní době v širším slova smyslu přetrvávání antigenních struktur v jaterní buňce a v krevním séru (14). Důsledky nosičských stavů pro klinickou a epidemiologickou praxi zůstávají stále aktuální (4, 8). Závažnou skutečností je trvalá existence zdroje nákazy HB v populaci, s širokými možnostmi přenosu parenterální, ale i nonparenterální cestou. V ČSSR to znamená existenci nejméně 100 000 nosičů HBsAg a několik tisíc hlášených primoinfekcí HB ročně (v absolutních číslech: 1982 — 3953, 1983 — 4112, 1984 — 3842) (18).

Nosiči HBsAg jsou infekční (riziková) pro svoje okolí v různé míře. Optimální laboratorní a virologická vyšetření pro diagnostiku primoinfekce HB a nosičských stavů doporučuje např. studie WHO (6). Jde však vesměs o techniky tzv. 3. generace, takže jejich širšímu pohotovému využití brání relativní nedostupnost diagnostických souprav, případně potřebného vybavení našich pracovišť (11).

S tímto problémem jsme se setkali i v naší práci (3). EM krevního séra a ultratenkých řezů jaterní tkáně nebude jistě patřit v budoucnu mezi rutinní diagnostické postupy pro technickou a ekonomickou náročnost. Možnost jejich aplikace nám však pomohla částečně analyzovat situaci u mladých jedinců s nosičskými stavy, kteří v kolektivech ČSLA převažují a jejichž služba je často fyzicky velmi náročná. Proto je třeba, aby i mladí jedinci byli dlouhodobě sledováni (po ukončení základní služby v hepatologických poradnách ÚNZ dle místa bydliště), vhodně poučení o vhodnosti dietního stravování, eliminaci hepatotoxických vlivů a nadměrné tělesné zátěži. Tam, kde je zjištěna chronická hepatopatie (CPH sdružená se steatózou, ev. steatofibrózou nebo CAH) a jde o nosičský stav trvající déle než 12 měsíců, navrhujeme — v souladu s vlastními předchozími zkušenostmi (15) — klasifikaci „Dočasně neschopen vojenské služby“.

Souhrn

U skupiny 38 mužů a 2 žen s průměrným věkem 23,7 roků byly při dispenzárních kontrolách nosičských stavů HBsAg použity elektronmikroskopické metody vyšetření séra a ultratenkých řezů necílených jehlových biopsií jater. U 23 nemocných současně vyšetřen HBeAg metodou RIA. Porovnání získaných výsledků prokázalo v 52,5 % chronickou perzistující hepatitidu, v 15 % chronickou aktivní hepatitidu.

Tyto diagnostické závěry byly uvedeny do vztahu s epidemiologickou diagnózou. Pro tzv. asymptomatické nosičství, stanovené dle nálezu nukleokapsidů v jádrech hepatocytů a Daneových částic v krevním séru, ev. pozitivitu HBe-antigenu, svědčilo 57,5 % vyšetřených. V 15 případech (37,5 %) svědčilo vyšetření pro rizikovost nosičského stavu pro okolí a závažnější prognózu současně přítomné chronické hepatopatie.

I u mladých jedinců je nutno nosičství HBV posuzovat opatrně, až po pečlivém komplexním vyšetření.

Literatura

1. ALTER, H. J.: Infektiosität des „gesunden“ Hepatitis-B-Antigen-Trägers. V. Internationales Lebersymposium, Basel 1979. Therapiewoche, 29, 1979, s. 40.
2. BENDA, R. a kol.: Diagnostika hepatitidy typu B elektronově mikroskopickým průkazem sérového korpuskulárního antigenu a jeho imunokomplexů. Čas. Lék. čes., 116, 1977, s. 1483—1489.
3. BENDA, R. a kol.: Poznatky a zkušenosti ze studia virových zánětů jater. Voj. zdrav. Listy, 53, 1984, č. 1, s. 18—24.
4. BREDE, H. D.: Hepatitis-B-Virus-Träger und ihre Probleme — Ein Situationsbericht. Forum Mikrobiologie, 1, 1978, s. 20.
5. ČERNÝ, E.: Možnosti histologické diagnostiky vývoje a pokročilosti chronické hepatitidy. Čas. Lék. čes., 115, 1976, s. 1479.
6. DEINHARDT, F. - GUST, I. D. et al.: Viral hepatitis. Bull. WHO, 60, 1982, s. 661—691.
7. HELCL, J. - PEČENSKOVÁ, I. - BERQUIST, K. et al.: Prevalence of HBsAg and anti-HBs in the Czech Socialist Republic (CSR). Int. J. Epidemiol., 8, 1979, s. 227.
8. HOLLAND, P. V. - ALTER, H. J.: The clinical significance of hepatitis B virus antigens and antibodies. Med. Clin. N. Amer., 59, 1975, č. 4, s. 849—855.
9. CHLUMSKÝ, J. - VOLEK, V.: Hepatologie. Praha, Avicenum 1979. 224 s.
10. JELÍNKOVÁ, A. a kol.: Průkaz Daneových částic a cirkulujících imunokomplexů HBsAg u chronických forem hepatitidy B v elektronovém mikroskopu. Čs. Epidem., 30, 1981, s. 148—155.
11. KOPECKÁ, D.: Virové hepatitidy. Prakt. Lék., 64, 1984, č. 18, s. 661—666.
12. KOSTRHUN, L. - JELÍNKOVÁ, A. - HELM, R.: Klinické zkušenosti s vyšetřením nosičů HBsAg pomocí elektronové a imunoelektronové mikroskopie. In: Sborník IV. konference čs. virologů. Praha 1981. s. 142 až 145.
13. NIELSEN, J. O.: What shall we do with HBsAg carrier? Scand. J. Gastroent., 11, 1976, č. 7, s. 641—644.
14. NORDENFELT, E.: Some epidemiological and clinical aspects of hepatitis B antigen and its subtypes. Scand. J. infect. Dis., 7, 1975, č. 2, s. 147—152.
15. PULTAR, J. a kol.: Nosičství HBsAg a jaterní léze. Voj. zdrav. Listy, 53, 1984, č. 2, s. 63—66.
16. SEICHERTOVÁ, A.: Elektronová mikroskopie ve výzkumu a diagnostice některých virových nákaz. [Kandidátská disertační práce.] Praha 1984. Mikrobiologický ústav ČSAV.
17. SOBĚSLAVSKÝ, O.: Virová hepatitida — současný

- stav, vědomosti a perspektivy. Acta hyg. epidemiol. mikrobiol., 1979, příl. 5, s. 1—23.
18. Statistické informace FSÚ, č. 33, Praha 1985.
19. STEIGMANN, F. - DOURDOUREKAS, D.: The asymptomatic HBsAg carrier. Amer. J. Gastroent., 65, 1976, č. 6, s. 512—518.
20. STRÁNSKÝ, J. a kol.: Výsledky dlouhodobého sledování antigenémie HBsAg u vleklých onemocnění jater. Vnitřní Lék., 29, 1983, č. 6, s. 565—570.
- Klíčová slova: Hepatitis B; Nosičství HBV; Elektronová mikroskopie.