

^ VIRUSURI HEPATITICE

Sub această denumire sunt grupate virusuri care deși aparțin unor familii distincte, cu caracteristici diferite (genom, replicare, evoluție a infecției, căi de transmitere), au în comun tropismul principal pentru hepatocite. Ca urmare, toate aceste virusuri determină hepatite cu manifestări clinice variabile :

- infecții asimptomatice
- simptome clinice acute : fatigabilitate, grețuri, vărsături, febră, icter
- forme clinice anicterice cu simptomatologie atipică (pseudo-gripală, pseudo-reumatismală, manifestări cutanate eruptive)
- hepatopatii cronice (simptomatice sau asimptomatice).

După simptomatologia clinică, diferitele tipuri de agenți infectanți nu pot fi diferențiați.

Până în prezent au fost identificate și caracterizate 7 virusuri hepatitice desemnate cu literele A-G, însă se pare că lista agenților încadrabili în acest grup generic rămâne deschisă (Tabel X).

VIRUSUL HEPATITIC A (HAV)

Aparține genului Heparnavirus din familia Picornaviridae. Anterior HAV a fost clasificat ca aparținând genului Enterovirus (desemnat ca enterovirus 72) însă deosebirile constatate între HAV și enterovirusuri privind rezistența în mediul extern, la agenți fizici și chimici, au determinat actuala încadrare.

Morfologie și structură

Virionul are formă sferică, având diametrul de 27 nm. Nu prezintă anvelopă.

Capsida are simetrie icosaedrică iar genomul este ARN monocatenar, cu polaritate pozitivă. În compoziția capsidei intră 4 proteine virale structurale (VP1-VP4) și 7 proteine nestructurale asociate cu mecanismele de replicare.

Proteinele structurale ce formează subunitățile nucleocapsidei sunt situate la capătul NH₂-terminal, iar replicaza virală specifică se găsește la capătul COOH-terminal al proteinei precursorare.

Replicare

Virusul hepatitic A (HAV) are tropism hepatocitar datorită existenței unor receptori specifici pe suprafața hepatocitelor. Mecanismul de replicare nu este încă pe deplin elucidat, el desfășurându-se probabil similar cu cel al enterovirusurilor.

Patogeneză

Calea de pătrundere a HAV în organism este cea fecal-orală. Infecția este favorizată de faptul că HAV are capacitatea de a rezista perioade îndelungate în mediu umed. Sursa de infecție este omul bolnav care, mai ales în perioada preicterică, este un intens excretor de virus. Contaminarea fecală a surselor de apă, în zone cu standard igienico-sanitar scăzut, constituie modalitatea principală de infectare.

Datorită dificultăților în izolarea HAV și imposibilității de creștere în culturi celulare, etapele mecanismului patogenetic nu sunt complet elucidate.

În orice caz, sediul inițial de replicare al HAV este intestinul. Urmează apoi o perioadă scurtă de viremie după care virusul ajunge la nivelul ficatului. Replicarea virală în hepatocite determină necroza acestora, însoțită de reacția inflamatorie locală. HAV nu produce efect citopatic direct. Modificările hepatocitare (liza, necroza) sunt consecința răspunsului imun al gazdei.

Aspecte clinice

Perioada de incubație este de 20-50 zile. Frecvența infecțiilor asimptomatice este crescută, mai ales la copii.

Formele manifeste clinic debutează de obicei cu fenomene digestive (grețuri, vărsături) urmate de icter la nivelul tegumentelor și mucoaselor. Faza icterică se remite în decurs de o lună.

Vindecarea este regula (complicațiile sunt extrem de rare, mortalitatea scăzută - vezi Tabel X) și este urmată de o imunitate durabilă (anticorpi protectori).

Tabel X. Virusuri hepatitice identificate până în prezent

Virus	Familie Genom	Transmitere	Debut	Incubație	Severitate în infecția acută	Mortalitate	Cronicizare
A	Picornaviridae ARN	fecal-orală	acut	20-50 zile	medie	sub 0,5%	NU
B	Hepadnaviridae ADN	-parenterală -sexuală - verticală - intrafamilială	acut sau insidios	45-160 zile	uneori ridicată	1-2%	DA
C	Flaviviridae ? ARN	-parenterală -sexuală -verticală	variabil	14-180 zile	de obicei forme subclinice	05-1%	DA
D	viroid-like ARN	-parenterală -sexuală	variabil	15-60 zile	variabilă	ridicăta	DA
E	Caliciviridae ? ARN	fecal-orală	acut	15-50 zile	medie sau severă (la gravide)	1-2% Gravide : 20%	NU
F	neîncadrat ADN	Non-parenterală	acut	?	?	?	?
G (GB)	Flaviviridae ? ARN	parenterală	?	?	?	?	posibilă ?

Diagnostic de laborator

A. Diagnostic direct - este dificil de realizat deoarece perioada de excreție fecală a virionilor este scurtă și se încheie de regulă la debutul perioadei icterice. De aceea izolarea și identificarea virusului (posibilă teoretic din sânge și fecale - vezi "Patogeneza") nu se realizează în mod curent. De asemenea HAV nu este cultivabil în culturi de celule.

Metodele de evidențiere a HAV în fecale sunt :

- Imunomicroscopia electronică
- Detectarea antigenelor virale prin teste imunoenzimatică sau radioimune
- Hibridizarea cu sondă ADN sau ARN
- PCR - amplificarea genică

B. Serologia - Diagnosticul de certitudine al unei hepatite virale A se bazează pe evidențierea anticorpilor serici specifici IgM anti-HAV prin tehnica imunoenzimatică (ELISA) sau prin test radioimun (RIA). Testul este pozitiv începând de la debutul fazei icterice, urmând ca titrul IgM anti-HAV să scadă în câteva săptămâni până la câteva luni, fiind înlocuiți de anticorpii IgG anti-HAV care persistă timp îndelungat (practic toată viața).

Testarea IgG anti-HAV este utilă pentru detectarea unei infecții cu HAV în antecedente. Testul pozitiv denotă imunitate durabilă.

Profilaxie

Profilaxia nespecifică se referă la măsuri cu caracter igienico-sanitar, caracteristice pentru prevenirea infecțiilor cu transmitere fecal-orală.

Profilaxia specifică

Imunizarea pasivă cu gama-globuline polivalente este eficace mai ales înaintea expunerii sau cel mult în decurs de 15 zile de la aceasta. Durata protecției este de 4-6 luni.

Imunizarea activă (vaccinarea) se realizează cu vaccin viral inactivat, cu administrare intramusculară.

Virusul hepatitic B (HBV)

HBV aparține familiei Hepadnaviridae (virusuri ADN care infectează ficatul). Alături de HBV, implicat în patologia umană, familia mai include virusuri similare care infectează unele animale (marmota, rața, veverița).

Morfologie și structură

Virionul complet (particula Dane) are diametrul de 42 nm. Alături de virioni compleți, în sângele pacienților infectați se mai observă formațiuni sferice sau tubulare cu diametrul de 22 nm care reprezintă de fapt antigen de suprafață (AgHBs) produs în exces.

Structura unui virion complet include : anvelopa, capsida și genomul.

HBV (Fig. ?) este un virus ADN circular, parțial dublu catenar. Virionul este constituit dintr-un "miez" ("core") și un înveliș exterior lipoproteic conținând antigenul de suprafață al HBV (AgHBs).

Cu ajutorul microscopiei electronice s-au depistat 3 feluri de particule cu înveliș în serul pacienților infectați cu HBV.

Așa-numitele particule Dane reprezintă virionul intact, infecțios .

Particulele sferice și filamentoase (tubulare), fără miez, sunt constituite din AgHBs și din lipide provenite de la celula gazdă. Acestea nu sunt infecțioase și sunt produse în timpul infecției în cantitate foarte mare. Ele reprezintă primul marker serologic al infecției HBV. Numărul lor este de 100-1000 de ori mai mare decât al particulelor Dane.

ADN-ul viral este strâns legat de ADN-polimerază, enzima necesară replicării virale. Ambele sunt înconjurate de un înveliș intern constituit din proteine care reprezintă antigenul "core" (al miezului) al HBV (AgHBc). AgHBc este prezent în hepatocite la pacienții infectați. Este puternic imunogen și aproape toți pacienții infectați dezvoltă anticorpi anti-HBc (AcHBc). Probabil se produce și o reacție în limfocite T. Reacția imună împotriva AgHBc joacă probabil un rol hotărâtor în eliminarea virusului. AgHBc nu este secretat în ser.

O parte componentă solubilă a AgHBc este însă secretată și apare în ser : antigenul "e" (AgHBe). AgHBe în ser denotă o replicare activă a virusului. Anticorpii anti-HBe (AcHBe) se dezvoltă în cazul infecției acute la săptămâni sau chiar luni după apariția AcHBc și marchează de regulă sfârșitul replicării virale.

Genomul HBV. ADN-HBV are o structură deosebită, caracteristică (Fig. ?). Este cel mai mic genom ADN viral cunoscut dintre cele care infectează omul și animalele. Structura sa este asimetrică și constă dintr-un lanț lung circular, cu polaritate negativă (L) care este legat de un lanț scurt, cu polaritate pozitivă și cu lungime variabilă (S). Această asimetrie este hotărâtoare pentru replicarea virală.

Genomul HBV conține 4 cadre libere de citire sau "open reading frames" (ORF) la nivelul lanțului lung (L-). Genele (ORF) core (pre-C și C) codifică pentru genele P (Pol) și S (Surface). În afară de acestea, există o genă (ORF) X, denumită astfel deoarece la momentul evidențierii acestei gene produsul său și funcția acestuia erau necunoscute. De altfel, și în prezent funcțiile genei X sunt neclare. AgHBx poate fi decelat în ficatul multor pacienți infectați cu HBV. Se pare că AgHBx amplifică replicarea virală prin activarea transcripției și, în unele condiții, participă la hepatocarcinogeneză.

Despre ADN-polimerază se cunosc puține aspecte dar este demonstrat că ea este sintetizată independent de produsele genice core (ale miezului).

Replicare

Virusurile ADN sunt mai rezistente și mai stabile decât cele ARN și folosesc pentru replicare mecanismul revers-transcripției. ADN-HBV se poate integra în genomul celulei gazdă. Hepatocitele care conțin ADN-HBV integrat nu mai exprimă proteine nucleocapsidare HBV și sunt astfel "protejate" de liza imunologică. Supraproducția de antigene virale (AgHBs, AgHBe) duce la imunotoleranță.

De îndată ce genomul unui hepadnavirus a pătruns într-o celulă, el ajunge în nucleu, unde polimerazele celulare îl transcriu într-o moleculă lungă de ARN. Această

moleculă de ARN (pregenomul) este apoi introdusă într-o capsidă nou-formată, împreună cu o moleculă de ADN-polimerază virală, acest complex reintrând în citoplasma celulei. Aici, polimeraza virală realizează revers-transcripția pregenomului într-un nou lanț de ADN negativ și, pe măsură ce acesta este sintetizat, pregenomul este distrus de enzimele virale. Apoi, ADN-polimerazele pot sintetiza lanțul pozitiv folosind ca model lanțul negativ. În momentul când virusul părăsește celula, capsida și ADN-ul viral sunt introduse într-o anvelopă externă, moment în care sinteza lanțului pozitiv încetează. Deoarece ieșirea particulelor virale se realizează după un timp variabil în funcție de celule și de statusul lor fiziologic, lungimea lanțului pozitiv este și ea variabilă. Acest mecanism surprinzător de replicare al hepadnavirusurilor îl amintește pe cel al retrovirusurilor, cum ar fi HIV, care au un genom ARN și care utilizează o moleculă ADN drept intermediar. Hepadnavirusurile au și alte trăsături comune cu retrovirusurile : cele două tipuri de virusuri pot infecta latent celulele, fără a le distruge, aranjarea și funcționarea genelor retrovirale gag, pol și env sunt comparabile cu cele ale genelor C, P și S ale hepadnavirusurilor (gena gag codifică proteina capsidei retrovirale, pol codifică o enzimă de transcripție și env codifică proteinele anvelopei). De asemenea, cele două familii de virusuri pot produce neoplazii.

Antigene și anticorpi (markeri serologici)

Trei sisteme majore antigen-anticorp sunt operante în cursul infecției HBV (acute sau cronice). Acestea sunt :

- antigenul de suprafață (AgHBs) și anticorpii față de acesta (AcHBs)
- antigenul miezului ("core") (AgHBc) și anticorpii față de acesta (AcHBc de tip IgM și IgG)
- antigenul "e" (AgHBe) și anticorpii față de acesta (AcHBe).

AgHBs se găsește atât în ser cât și intrahepatocitar, sub formă liberă (sfere, tubuli) sau încorporată în particulele Dane.

AgHBc se găsește doar în nucleul hepatocitelor infectate (nu apare în ser), însă o porțiune solubilă a sa este eliberată prin proteoliză la nivelul membranei hepatocitare ajungând astfel în sânge sub forma AgHBe. Cu alte cuvinte, prezența AgHBe în ser denotă prezența AgHBc în hepatocit și replicarea virală activă. (Tabel X)

Tabel X. Markerii serologici în infecția HBV

Marker	Semnificație	Pozitiv în :
ANTIGENE		
AgHBs	antigen de suprafață (neinfecțios per se)	infecții acute și cronice
AgHBe	- componentă a miezului viral - prezența serică denotă infecțivitate	infecții acute și cronice
AND- polimeraza	idem	idem
ANTICORPI		
AcHBs	- infecție vindecată - imunitate persistentă	- convalescență - după vaccinare
AcHBe	- replicare virală diminuată - infecțivitate scăzută sau absentă	- convalescență - infecții cronice cu replicare virală redusă - infecții cronice cu mutante virale
AcHBc	IgM - infecție recentă	primul anticorp care se pozitivează în infecția acută * se poate pozitiva în pusee de reactivare ale unor infecții cronice
AcHBc	IgG - infecție în antecedente	- markerul cu persistența cea mai îndelungată

Patogeneză

Hepatocitele nu sunt singurele celule ce pot fi infectate de HBV. Astfel, celulele epiteliale ale căilor biliare, celulele endoteliale hepatice, pancreatice, renale, tegumentare, leucocitele pot fi de asemenea infectate și ele joacă probabil un rol în transmiterea virusului sau în persistența sa în organism.

Infecția cu HBV se realizează total diferit de cea cu HAV.

HBV se transmite prin : expunere perinatală, contact sexual, contact cu sânge și produse de sânge, transplant de organe și țesuturi, manopere percutane cu instrumente contaminate.

În urma replicării active a HBV intrahepatocitar, un mare număr de virioni compleți (particule Dane) precum și particule incomplete sferice și tubulare (AgHBs) sunt eliberați în sânge. Viremia HBV este extrem de ridicată (până la 1010 virioni / ml.) ceea ce explică contagiozitatea extrem de mare a subiecților infectați.

În timpul infecției acute, modificările hepatice sunt similare cu cele din infecția cu HAV, cu deosebirea că o parte din hepatocite prezintă aglomerări extrem de importante de AgHBs produs în exces. În cazurile de infecții cronice HBV, aspectele histologice hepatice variază de la modificări minimale până la noduli cirofici ce constituie la o parte din cazuri stadii precoce ale dezvoltării carcinomului hepatocelular primar.

Sindroame clinice

Tipurile de infecție HBV sunt mult mai variate decât în cazul HAV, evoluțiile fiind influențate de o serie de factori legați de organismul infectat (vârsta la care survine infecția, sex, starea sistemului imun).

1. Hepatita acută - inaparentă
 - simptomatică (tipică sau atipică)
2. Hepatopatii cronice - status de purtător asimptomatic
 - hepatite cronice
 - ciroza hepatică
 - carcinom hepatocelular primar

1. Hepatita acută inaparentă sau asimptomatică poate fi decelată doar accidental prin teste biochimice denotând citoliză hepatică moderată. Se apreciază că aproximativ o treime din infecțiile acute HBV sunt asimptomatice.

Hepatita acută simptomatică poate evolua tipic, cu fenomene digestive, fatigabilitate și icter sau atipic (anicteric, cu fenomene pseudo-reumatismale, pseudo-dermatologice, etc). Se pare că doar o treime dintre infecțiile acute HBV evoluează simptomatic tipic.

2. Hepatopatii cronice

a) Statusul de purtător asimptomatic - prezența în sânge a AgHBs asociată sau nu cu AcHBc de tip IgG (restul markerilor - negativi). La nivel hepatic nu se constată modificări.

b) Hepatitele cronice și ciroza hepatică

- serologic : AgHBs asociat sau nu cu markeri de replicare virală
- histologia hepatică denotă grade diferite de afectare (de la modificări minimale la fragmentarea parenchimului în noduli cirofici)

c) Carcinomul hepatocelular primar - apare prin malignizarea unei ciroze induse de HBV sau poate surveni fără ciroză premergătoare. Se pare că în carcinogeneza indusă de HBV un rol important îl are integrarea ADN-HBV în genomul hepatocitar.

La adult, în aproximativ 90% din cazuri infecțiile HBV evoluează spre vindecare, cu eliminarea virusului din organism, refacerea leziunilor hepatice și imunitate durabilă (AcHBs persistă în general toată viața). Doar 10% dintre adulți nu pot elimina virusul (cauzele nu sunt pe deplin elucidate) devenind astfel purtători cronici HBV.

În cazul copiilor, infecția HBV are un prognostic cu mult mai rezervat, în sensul că rata cronicizărilor este cu mult mai mare. De fapt probabilitatea de cronicizare a unei infecții HBV crește invers proporțional cu vârsta subiectului infectat. Astfel, la nou-născuții din mame infectate (transmitere perinatală) rata cronicizării poate ajunge la 90%.

Diagnostic de laborator

A. Teste specifice

1. Metodele imunoenzimatică .Prin ELISA se decelează prezența markerilor serologici ai HBV care sunt reprezentați de cele 3 sisteme majore antigen-anticorp care operează în cursul infecției, și anume : antigenul de suprafață al HBV (AgHBs) și anticorpul față de acesta (AcHBs), antigenul miezului ("core") (AgHBc) și anticorpul față de acesta (AcHBc) și antigenul "e" (AgHBe) și anticorpul corespunzător (AcHBe). Deci serologia hepatitei B este astăzi foarte completă. Tabelul V prezintă principalele asocieri de markeri HBV iar Tabelul VI indică markerii serologici ce trebuie testați în funcție de diferite circumstanțe clinice.

Tabel V.Principalele asocieri de markeri în hepatita B

Antigene HBs HBe	Anticorpi anti- HBc HBe HBs	Comentarii		
+		-fază acută foarte precoce -bolnav foarte infecțios		
+	+	-fază acută precoce -bolnav foarte infecțios		
+	+	+	-fază acută peste 14 zile după instalarea viremiei -bolnav foarte infecțios -aceleși profil în hepatita virală B cronică	
+	+	+	-fază acută (la finele evoluției) -bolnav infecțios,prognostic bun -purător cronic în general asimptomatic	
	+	+	-faza de convalescență -bolnavul poate fi încă infecțios (ADN HBV detectabil uneori în seruri AgHBe negative) -purător cronic sau subiect imunizat (AgHBs sau AcHBs nedecelabili serologic)	
	+	+	+	-vindecare -bolnav neinfecțios,subiect imunizat -contaminare pasivă(transfuzie)
	+		+	-vindecare, antecedente îndepărtate de hepatită virală B
	+			-contaminare veche sau pasivă (transfuzie)
			+	-subiect vaccinat cu vaccin anti-HBV -seroprotecție prin IgG-HBs

Tabel VI.Utilizarea markerilor serologici ai hepatitelor virale

Situații clinice	Markeri de cercetat	Scop
1.Hepatite acute	AgHBs IgM-HBc IgM-HAV AcHCV*	-diagnosticarea hepatitelor A,B acute * diagnosticarea hepatitei C
2.Hepatită B	A. AgHBs/AcHBc IgM-HBc B. ADN viral AgHBe/AcHBe C. AcDelta	A.confirmarea hepatitei B cronice (AgHBs/AcHBc poz), IgM-HBc fiind negativ B.cercetarea sistemului HBe și măsurarea cantitativă (pg/ml) a ADN viral permite aprecierea importanței contagiozității și măsurarea eficienței tratamentului antiviral adoptat C.diagnosticarea unei infecții duble HBV-HDV
3.Status imunitar A.prevaccinal HBV B.postvaccinal HBV	A. AcHBc AgHBs AcHBs cantitativ B. AcHBs cantitativ	A.conduita depinde de rezultatele markerilor: -markeri HBV-negativi ; subiectul se vaccinează ; -numai AgHBs pozitiv (vezi AcHBc) ;subiectul este infectat cu HBV și o vaccinare este ineficace -AcHBs și AcHBc pozitivi ;subiectul deja în contact cu HBV, a dezvoltat AcHBs (nivel protector minim recomandat:10 mUI/ml) B.controlarea imunității după vaccinare (nivel minim recomADNAt:10 mUI/ml)
4.Grupe de risc	A.AcHBc AgHBs/AcHBs AcDelta	-dacă AcHBc este pozitiv se determină AgHBs,AcHBs și HIV -dacă AgHBs este pozitiv se determină AcDelta
5.Depistare prenatală	A.AgHBs B.AgHBe/AcHBe ADN viral	A.depistarea gravidelor care pot transmite HBV copiilor lor B.dacă AgHBs este pozitiv se vor determina alți markeri și se verifică anturajul familial
6.Urmărirea nou-născutului	AgHBs/AcHBs cantitativ	-de verificat serovaccinarea copiilor născuți din mame AgHBs pozitive

2. Hemaglutinarea pasivă inversă . Deși nu este metoda de elecție, poate fi folosită în cazurile în care este necesar un diagnostic rapid. AgHBs este detectat prin tratarea serului de cercetat cu eritrocite acoperite cu AcHBs. În cazul prezenței AgHBs în ser, se produce aglutinarea eritrocitelor. Testul este rapid însă confirmarea prin ELISA este întotdeauna necesară.

3. Microscopia electronică. Vizualizarea particulelor Dane și a particulelor sferice și tubulare AgHBs în ser este facilitată de densitatea crescută a acestora, însă această tehnică nu este de uz curent.

4. Tehnici de biologie moleculară

- Hibridizarea cu sonde ADN

B. Teste nespecifice

Sunt utile pentru a stabili gradul de afectare hepatică, fără a putea da o orientare etiologică. Astfel, în infecția acută și în puseele de reactivare ale infecțiilor cronice se constată :

- creșterea alanin-aminotransferazei și a altor enzime hepatice
- scăderea protrombinemiei
- creșterea bilirubinemiei.

Profilaxie

Măsuri nespecifice. Acestea se referă la măsurile generale de protecție împotriva infecțiilor cu transmitere parenterală (testarea corectă a sângelui transfuzat, sterilizarea corectă a instrumentarului utilizat în manoperele parenterale, etc.) și sexuală (contact sexual protejat).

Măsuri specifice

Profilaxia pasivă. Eficacitatea imunoglobulinelor specifice anti-HBs în prevenirea infecțiilor HBV a fost demonstrată. Imunizarea pasivă a fost utilizată fie ca protecție după expunerea la riscul de infectare, ca de exemplu în cazul unei înțepături accidentale, fie ca tratament preventiv administrat regulat personalului din unități de hemodializă cronică, înainte de era vaccinurilor anti-HBV.

Profilaxia activă. Vaccinurile utilizate inițial au fost derivate din plasma purtătorilor HBV. Ulterior, au apărut vaccinuri produse prin inginerie genetică (vaccinuri recombinante). Incepând cu 1985, au fost elaborate două tipuri de vaccinuri : cele produse în celule de levuri și cele produse în celule de mamifere. Aceste vaccinuri recombinante se caracterizează prin faptul că nu conțin virus integral ci doar AgHBs.

Virusul hepatitic D (HDV, agentul delta)

Agentul cunoscut ca HDV (virus hepatitic D) a fost decelat sub forma unui nou antigen nuclear care apărea în hepatocitele unor pacienți infectați cu HBV. Acesta a fost denumit antigen delta (AgHD) și este frecvent asociat cu forme mai severe de hepatită. S-a demonstrat ulterior că AgHD intră în compoziția unor particule virale defective de 35-37 nm. care apar în titru ridicat comparativ cu cel al particulelor HBV "helper".

Morfologie și structură

Particulele HDV (Fig. ?) sunt constituite dintr-o anvelopă externă lipidică ce conține AgHBs, care încapsidează AgHD și o moleculă mică de ARN monocatenar, circular, covalent închis. Aceste proprietăți neobișnuite se aseamănă cu cele ale ARN-urilor unor particule viroid-like, sateliți ai unor virusuri ai plantelor care influențează dramatic evoluția bolii inițiate de virusul helper.

HDV este un viroid de 35 nm, cu dublă anvelopă. Sinteza anvelopei externe, constituită din AgHBs, depinde de HBV, deoarece HDV este un virus defectiv. În schimb, sinteza anvelopei interne, formată de antigenul delta (AgHD), depinde de genomul HDV. Deși există un număr de cadre libere de decodare (ORF), s-a demonstrat că doar un singur ORF codifică proteina virală.

Replicare

După pătrunderea într-o celulă, ARN-HDV se replică eficient fără a necesita nici o intervenție a HBV, sugerând că funcția "helper" HBV (poate singura) este de a asigura intrarea în celulă prin interacțiunea suprafeței celulare cu anvelopa virală conținând AgHBs.

Ca și virozii sau virusurile satelite ale plantelor, ARN-HDV se replică circular și posedă activități de autoclivaj și de ligare. Totuși, HDV este mai complex deoarece genomul său codifică două proteine virale specifice : antigenul mare și cel mic al HDV. AgHD mic este esențial pentru replicarea virală în timp ce AgHD mare este esențial pentru asamblarea particulei virale.

Patogeneză

Infecția HDV nu se poate produce în absența HBV, deci transmiterea HDV se produce de obicei pe cale parenterală, în mod similar cu transmiterea HBV. De menționat că transmiterea pe cale sexuală este mai puțin eficace decât în cazul HBV.

Principalele grupe de risc pentru infecția HDV sunt toxicomanii care folosesc droguri cu administrare intravenoasă (prin folosirea în comun a acelor și seringilor), pacienții cu tratamente injectabile multiple cu fracțiuni plasmatiche, imigranții din zonele delta-endemice și purtătorii HBV supuși riscului infecției cu HDV.

Incubația hepatitei delta este cuprinsă între 21-60 de zile, debutul este de obicei acut, iar prezența icterului este foarte variabilă .

Portajul cronic face parte din evoluție și stă la originea a peste 30% din decesele raportate în formele cronice. Există două forme de infecție acută : co-infecția și suprainfecția.

În cazul co-infecției, subiectul este simultan infectat cu HBV și HDV. Evoluția spre cronicizare este rară (5% din cazuri). Detectarea ARN-HDV în ser și a AgHD în ficat sunt posibile în cursul incubației, ulterior apariției AgHBs în ser. Creșterea valorilor transaminazelor, adesea difazică, acompaniază icterul și simptomele subiective, rapid urmate de apariția anticorpilor anti-HDV. După dispariția AgHBs, replicarea HDV și boala diminuează. De semnalat că doar serologia permite supoziția de co-infecție HBV-HDV.

În cazul suprainfecției cu HDV a unui purtător cronic de HBV, evoluția spre cronicizare se produce în peste 80% din cazuri, cu persistența AgHD în ficat. Mortalitatea formelor acute este de 2-20% și este determinată de evoluțiile fulminante. Deci, formele cronice rezultă cel mai des prin suprainfecția unui purtător cronic HBV. Această formă se caracterizează prin creșterea nivelurilor transaminazelor cu caracter persistent, însoțită de apariția anticorpilor anti-HDV care sunt prezenți în titruri mari, durabile. ARN-HDV persistă în ser și 70-80% din formele cronice evoluează spre ciroză. Această evoluție se produce adesea în mai puțin de 2 ani (15% din cazuri).

Diagnostic de laborator

A. Serologia

Serodiagnosticul infecției HDV se bazează în principal pe teste pentru evidențierea AcHD, având în vedere că AgHD are o perioadă foarte scurtă de prezență în ser. Există teste disponibile atât pentru IgM-HD cât și pentru IgG-HD (Tabel X).

Tabel X. Diagnosticul serologic al infecției cu HDV.

Markeri	Coinfecție acută	Suprainfecție acută	Hepatită D cronică
AgHBs	+	+	+
IgM-HBc	+		
Ac-HD	+,titruri slabe, tranzitorii ¹	+,titruri în creștere, durabile ²	+,titruri ridicate, durabile ³
HDV în ficat	+	+	++

1, 2 și 3 : se efectuează minimum 2 testări succesive (în faza acută și în convalescență), deoarece Ac-HD pot fi tranzitorii, în titruri scăzute și cu apariție tardivă în timpul fazei acute.

B. Tehnici de biologie moleculară

- Decelarea ARN-HDV prin PCR

Virusul hepatitic C (HCV)

Virusul hepatitic C este principalul agent al hepatitelor desemnate anterior drept "non-A-non-B". În prezent HCV este încadrat în familia Flaviviridae, care a fost recent subdivizată în 3 genuri :

- genul Flavivirus - include foste arbovirusuri (v. febrei galbene, v. febrei Dengue)
- genul Pestivirus - virusuri implicate în patologia animală
- genul Hepacavirus - nume propus pentru diferitele variante de HCV

Morfologie și structură

Virionii de formă sferică au diametrul cuprins între 55-65nm. Structura virionului include :

- anvelopa - de natură lipo-proteică (strat lipidic în care sunt inserate 2 proteine organizate în complexe dimerice : E1 și E2)
- capsida - cu simetrie icosaedrică
- genomul - ARN monocatenar cu polaritate pozitivă.

Genomul HCV codifică o poliproteină ce este ulterior clivată rezultând proteinele virale funcționale :

- proteine structurale - C - capsidală și E1, E2/NS1 - de anvelopă, codate de genele de la capătul 5' al genomului
- proteine nestrucurale - 6 proteine reglatoare codate de genele de la capătul 3' al genomului (NS2, NS3, NS4a, NS4b, NS5a, NS5b).

La nivelul capătului 3' al genomului se găsește o regiune cu dimensiuni și secvență variabile.

Replicare

Mecanismele sunt încă incomplet elucidate din cauza absenței, până în prezent, a unor sisteme de cultivare eficiente. S-ar părea că hepatocitele umane în cultură primară sau liniile celulare hepatice imortalizate pot fi infectate.

Un alt aspect interesant este tropismul HCV pentru polimorfonucleare.

Variabilitate genetică. Este importantă (ca și în cazul altor virusuri ARN), având la bază incapacitatea ARN-polimerazei virale de a corecta erorile survenite în cursul replicării. Aceste erori se traduc prin mutații. Unele dintre aceste erori sunt tolerate în timp ce altele pot aboli sau modifica profund funcționalitatea ARN viral. Prin acest mecanism de "eroare și selecție" apar variante multiple genomice. La această selecție de mutante se adaugă și presiunea exercitată de sistemul imun al gazdei, ceea ce duce la variabilitatea genică extrem de ridicată a ARN-HCV.

Clasificare (tipuri și subtipuri HCV). Ca urmare a hipervariabilității genetice constatate în cazul HCV s-a ajuns la identificarea de tipuri și subtipuri de molecule ARN-HCV (10 tipuri și 52 subtipuri), între care, până în prezent nu s-a putut demonstra recombinația.

Patogeneză

Infecția HCV se poate transmite prin mai multe căi (vezi Tabel X), conturându-se astfel grupe de populație cu risc crescut de infectare : receptorii de transfuzii de sânge, toxicomanii (folosirea în comun a seringilor), partenerii sexuali ai persoanelor infectate, nou-născuții mamelor infectate.

a) Manifestări hepatice

Indiferent de calea de infectare, după o incubatie de până la 180 de zile, survine un episod de hepatită acută simptomatică sau asimptomatică. Formele icterice sunt extrem de rare. De cele mai multe ori, simptomatologia hepatică poate trece neobservată, ea fiind acompaniată de simptome atipice (90% din cazuri). Testele de hepatocitoliză sunt elevate în cursul fazei acute. Formele fulminante sunt o excepție.

În 60-80% din cazuri, virusul nu poate fi eliminat și infecția se cronicizează. Mecanismele cronicizării nu sunt perfect elucidate, dar este probabil că hipervariabilitatea genetică a HCV joacă un rol important (mutante care scapă recunoașterii de către sistemul imun al gazdei). De asemenea, mecanisme reglatoare complexe permit ca nivelul replicării HCV să fie scăzut, compatibil cu "supraviețuirea" hepatocitului. În unele cazuri se discută implicarea mecanismelor autoimune.

Infecția cronică HCV este de asemenea pauci- sau asimptomatică, cu hepatocitoliză moderată sau chiar absentă (fluctuații ale valorilor transaminazelor). Histologia hepatică este oarecum caracteristică (evocatoare) pentru infecția HCV : aspecte de inflamație portală și lobulară asociate cu necroză periportală, la care se adaugă leziuni de steatoză hepatică.

Riscul de dezvoltare a unei ciroze hepatice și / sau a carcinomului hepatocelular primar există și este augmentat în cazul asocierii altor factori de agresiune hepatică (alcool, infecție HBV cronică).

b) Manifestări extrahepatice

Sunt urmarea faptului că HCV nu posedă numai tropism hepatocitar. Patologia extra-hepatică indusă de HCV cuprinde o serie de afecțiuni cu mecanisme patogenetice mai mult sau mai puțin elucidate :

1 - Anomalii imunologice

Mecanisme :

- formare de complexe imune circulante (crioglobulinemiile mixte anterior considerate "esențiale")

- mecanisme autoimune

Manifestări clinice : cutanate (purpură), articulare (artrite), nervoase (neuropatii senzitive periferice), renale (glomerulonefrita membrano-proliferativă), tiroidiene (tiroidite autoimune)

2 - Porphiria cutanea tarda (forma sporadică) - deficiența enzimei hepatice uroporfirinogen-decarboxilaza

Mecanism : incomplet elucidat (probabil HCV joacă rol de declanșare a maladiei pe un fond genetic predispus)

3 - Lichenul plan - legătură incomplet elucidată cu infecția HCV

4 - Sindromul Gougerot-Sjogren - (sialadenita limfocitară) - idem

Diagnostic de laborator

A. Metode indirecte - Serologia

Clonarea genomului HCV a permis producerea în cantități mari de proteine recombinante și peptide de sinteză codate de genele structurale și nestructurale ale virusului. Aceste antigene virale sunt utilizate în testele serologice, permițând detectarea specifică a anticorpilor anti-HCV. Diagnosticul presupune utilizarea a două tipuri de teste : 1. de depistare și 2. de validare (de confirmare).

1. Teste de depistare - ELISA - proteinele recombinante (antigenele) virale sunt fixate pe suportul solid (polistiren, nitroceluloză), iar detectarea anticorpilor specifici se realizează prin imunocaptură.

2. Teste de validare - utilizează tehnici de imuno-blotting - RIBA (Radio-immunoblot-assay)

B. Metode directe - Tehnici de biologie moleculară

- PCR (Polymerase Chain Reaction)

- NASBA (Nucleic Acid Sequence Base Amplification)

Profilaxie

Măsurile profilactice nespecifice sunt similare cu cele împotriva infecției HBV.

Profilaxia specifică activă (vaccinarea) este încă în studiu. Datorită extrem de ridicatei variabilități genetice, prepararea unui vaccin anti-HCV nu a putut fi încă realizată.

Virusul hepatitic E

Este provizoriu încadrat în familia Caliciviridae.

Morfologie și structură

Virionul este lipsit de anvelopă, având formă sferică și diametrul cuprins între 27-34 nm.

Genomul este ARN monocatenar cu polaritate pozitivă, cuprinzând 3 ORF :

- ORF1- codifică proteinele nestructurale
- ORF 2 și ORF3 - codifică proteine structurale.

Replicare

Se produce în hepatocit, dar mecanismul este momentan neelucidat.

Patogenează

Infecția HEV are multe puncte comune cu infecția HAV (calea de transmitere fecal-orală, replicarea intrahepatocitară). Și în cazul infecției HEV se parccurg etape similare : sediul inițial de replicare este intestinul (excreție intensă de virioni), urmează apoi o viremie de scurtă durată și infectarea hepatocitului cu hepatocitoliză și inflamație locală (nu prin efect citopatic direct, ci prin răspunsul imun al gazdei).

Nu se cunosc date care să ateste evoluția cronică.

Anticorpil de tip IgM apar concomitent cu creșterea transaminazelor și apoi titrul lor scade treptat (în decurs de 3 luni) fiind înlocuiți cu IgG-HEV. Persistența în ser a anticorpilor de tip IgG este mai redusă decât în infecția cu HAV. IgG-HEV se negativează în câțiva ani.

În peste jumătate din cazuri infecția HEV este asimptomatică, formele manifeste clinic fiind mai frecvente la adolescenți și adulți tineri. Evoluția infecției este benignă, cu excepția situațiilor când ea survine la gravide. Infectarea gravidelor evoluează sever, cu forme fulminante urmate de deces în până la 20% din cazuri.

Diagnostic de laborator

A. Diagnostic direct

Evidențierea HEV în scaun prin microscopie electronică este relativ dificilă, din aceleași motive ca în infecția HAV. HEV poate fi detectat prin imunomicroscopie electronică, iar genomul viral poate fi pus în evidență prin tehnici de biologie moleculară (PCR).

B. Diagnostic indirect

Constă în decelarea anticorpilor anti-HEV în ser. Se utilizează tehnici ELISA și Western blot. Diagnosticul ar necesita (ca și în cazul hepatitei A) detectarea IgM-HEV, care încă nu este de uz curent.

Virusul hepatitic F

A fost identificat în cazuri de hepatite cu transmitere non-parenterală non-A non-E (și non-B, non-C, non-D), semnalate în mai multe țări. Virusul a fost denumit HFV (Hepatitis French Virus).

Este un virus ADN dublu catenar, cu dimensiuni cuprinse între 27-37 nm.

Grupul virusurilor hepatitice GB

Mai multe cazuri de hepatite acute cu transmitere parenterală au fost considerate ca fiind produse de 2 agenți virali nou evidențiați, cu structură asemănătoare flavivirusurilor dar totuși diferită de cea a HCV. Aceste 2 virusuri au fost desemnate drept virusul hepatitic GB-A și GB-B (GBV-A și, respectiv GBV-B) (GB fiind inițialele unui chirurg care a dezvoltat o hepatită acută și în serul căruia a fost identificat pentru prima dată un agent viral de acest tip).

Un al treilea virus GB (GBV-C) a fost recent identificat, discutându-se posibila sa implicare în hepatite cronice.