

SEROLOŠKA DIJAGNOSTIKA HEPATITIS C VIRUSNE INFEKCIJE – STANJE U PRIMORSKO-GORANSKOJ ŽUPANIJI

SEROLOGICAL DIAGNOSIS OF HEPATITIS C VIRAL INFECTION – SITUATION IN PRIMORSKO-GORANSKA COUNTY

Brigita Tićac^{1,2}, Tomislav Rukavina^{1,2}

SAŽETAK

Hepatitis C jedan je od najvažnijih javnozdravstvenih problema u svijetu. Najveći problem infekcije hepatitis C virusom, jest čest razvoj kroničnih oblika bolesti koji traje desetljećima i pojavljuje se u više od 80% inficiranih osoba. U visokoj proporciji oboljelih osoba, kronični hepatitis dovodi do razvoja ozbiljnih komplikacija poput ciroze i hepatocelularnoga karcinoma. Prevalencija hepatitisa C različita je u pojedinim područjima u svijetu. Dok podaci za Republiku Hrvatsku pokazuju prevalenciju od približno 1%, za Primorsko-goransku županiju o prevalenciji nema raspoloživih podataka.

U radu retrospektivno su analizirani laboratorijski nalazi seroloških testiranja na hepatitis C virus (HCV), provedenih u Laboratoriju za serodijagnostiku Nastavnoga zavoda za javno zdravstvo (NZZJZ) Primorsko-goranske županije tijekom godine 2006., i u prvih pet mjeseci godine 2007. Pretraženo je ukupno 4785 uzoraka seruma bolesnika s područja Primorsko-goranske županije. Ukupno su evidentirane 174 anti-HCV pozitivne osobe. Među pozitivnim osobama podjednako su bila zastupljena oba spola. Analiza dobne raspodjele pokazala je da je od svih anti-HCV pozitivnih bolesnika, najzastupljenija bila dobna skupina između 21 godine i 30 godina, i to s 44%, te dobna skupina između 31 godine i 40 godina s 19%.

Ključne riječi: hepatitis C virus (HCV), serološka dijagnostika, anti-HCV EIA, raspodjela prema spolu i dobi

ABSTRACT

Hepatitis C is today one of the most important public health problems in the world. The major problem connected with hepatitis C virus infection is the fact that more than 80% of infected persons will develop chronic infection lasting for decades. The prevalence of hepatitis C virus infections varies in different parts of the world. A great proportion of chronic infections will result with the development serious complications such as cirrhosis and hepatocellular carcinoma. The prevalence of hepatitis C is different in different parts of the world. The estimated prevalence for Croatia is about 1% and there are no available data regarding prevalence for Primorsko-Goranska County.

Present paper represents the results of retrospective analysis of serological tests for hepatitis C virus (HCV) performed in the Laboratory for Serodiagnosis of Teaching Institute of Public Health of Primorsko-Goranska County during 2006 and first five months of 2007. Overall 4785 sera of patients from Primorsko-Goranska County were analysed with positive anti-HCV results found in sera from 174 patients. Positive anti-HCV results were distributed almost equally among female and male patients. Analysis of age distribution revealed that most of positive anti-HCV patients belong to the age group between 21 and 30 years (44%), followed by the age group between 31 and 40 years with 19% of all anti-HCV positive patients.

Key words: hepatitis C virus (HCV), serological diagnosis, anti-HCV EIA, sex and age distribution

¹ Mikrobiološki odjel, Nastavni zavod za javno zdravstvo Primorsko-goranske županije, Rijeka

² Zavod za mikrobiologiju i parazitologiju, Medicinski fakultet Sveučilišta u Rijeci

Primljeno: 15. kolovoza 2007.

Prihvaćeno: 1. rujna 2007.

Adresa za dopisivanje: doc. dr. sc. Brigita Tićac, Mikrobiološki odjel, Nastavni zavod za javno zdravstvo Primorsko-goranske županije, Krešimirova 52a, 51000 Rijeka, tel.: 051 358 768, faks: 051 358 775, e-mail: brigita@medri.hr

UVOD

Danas je poznato najmanje šest različitih virusa koji mogu uzrokovati upalu jetre ili hepatitis (A, B, C, D, E i G). S obzirom na učestalost kroničnoga razvoja infekcije s trajnim oštećenjem jetre i mogućnošću nastanka hepatocelularnoga karcinoma, hepatitis C najozbiljniji je zdravstveni problem.

Hepatitis C virus (HCV) svrstan je u porodicu *Flaviviridae*. Toj porodici pripadaju mnogobrojni virusi, uključujući uzročnike žute groznice i denge. Genom virusa tvori jednolančana pozitivna ribonukleinska kiselina (RNA), građena od približno 10.000 nukleotida. Genom određuje sintezu triju glavnih strukturnih proteina, te nekoliko nestrukturnih, ali funkcionalno bitnih proteina poput enzima polimeraze. HCV je otkriven određivanjem virusnih sekvenci rekombinantnom tehnologijom, i danas je njegov genom u cijelosti sekvencioniran^{1,2}.

S obzirom na različitosti u redosljedu nukleotida, hepatitis C virus dodatno je razvrstan u šest osnovnih genotipova, te u više od 90 podtipova koji variraju ovisno o rasprostranjenosti u svijetu^{3,4}. Genotipovi 1a i 1b uzrokuju približno 2/3 infekcija u SAD-u, a genotip 1 s visokom se učestalosti pojavljuje u Afroamerikanaca (90% – 95%)⁵. Dodatno je spoznato da taj virus učestalo spontano mutira u svakom pojedinačnom domaćinu, stvarajući zasebne, takozvane kvazvrste⁶. Takve izmjene virusa onemogućuju učinkovitu imunološku obranu domaćina, što posljedično visokom učestalosti kroničnih HCV infekcija (više od 80%). Genetska raznovrsnost virusa uvelike otežava otkriće učinkovita cjepiva, a pojedini genotipovi međusobno se razlikuju i prema osjetljivosti na liječenje. Budući da se radi o sporo napredujućoj infekciji, uz pravodobno liječenje oboljeli se u potpunosti mogu oporaviti. Uočeno je da je terapija interferonom učinkovitija u slučajevima infekcije genotipovima 2 i 3 u odnosu prema infekciji genotipovima 4 i 1, napose podtipom 1b^{7,8}.

Koncentracija virusa u krvi nije u međuovisnosti sa stupnjem oštećenja koje se uočava u biopsiji jetre. Sam virus najvjerojatnije ne uzrokuje izravno oštećenje, već je to oštećenje posljedica suodnosa virusa s imunološkim sustavom organizma, što u prvome redu uključuje aktivnost citotoksičnih limfocita i proupalnih medijatora, odnosno citokina⁹.

Hepatitis C virus prenosi se izravno s osobe na osobu, najčešće preko krvi inficirane osobe, poglavito unutarvenskih ovisnika. Izvan ljudskog organizma virus može preživjeti nekoliko sati, a u krvi koja se nalazi izvan živog organizma, virus

može preživjeti tjednima, čak i mjesecima. Stoga se hepatitis C virus može prenositi krvnim pripravcima, ili transplantacijom zaraženih organa poput jetre, bubrega, ili srca^{10,11}. Razvoj dijagnostičkih postupaka i testiranje krvi poradi otkrivanja hepatitisa C, umnogome je smanjilo prijenos infekcije krvnim pripravcima. Osim u krvi, HCV je otkriven i u slini, spermi i vaginalnomu sekretu. Može se, iako ne s visokom učestalosti, prenositi i spolnim odnosom. Nije dokazana mogućnost prijenosa HCV-a vodom, hranom, dojenjem, korištenjem pribora za jelo i piće, te poljupcem, ako je sluznica usne šupljine neozlijeđena. Zdravstveni djelatnici koji dolaze u izravni dodir s krvi, tjelesnim tekućinama i kontaminiranim iglama, češće su izloženi infekciji. U odnosu prema općoj populaciji, veća zastupljenost hepatitisa C zabilježena je u bolesnika na hemodijalizi¹².

Za dokazivanje infekcije koriste se raznovrsni dijagnostički testovi. Većina pretraga probira za HCV infekciju otkriva protutitijela protiv HCV proteina (anti-HCV), imunoenzimskim postupkom (EIA, engl. Enzyme Immunoassay). Uobičajeno, protutijela se pojavljuju u razdoblju od 33 do 129 dana nakon infekcije^{13,14}. Za otkrivanje protutijela koriste se vrlo osjetljivi EIA testovi treće generacije (EIA-3), koji sadrže rekonfigurirane proteine jezgre, antigen NS3, te dodatni antigen NS5 koji se nije koristio u EIA testovima prijašnjih generacija. EIA-3 skraćuje vrijeme otkrivanja protutijela na 7 do 8 tjedana nakon infekcije. U bolesnika u kojih se virus iščistio iz krvotoka, anti-HCV titar postupno opada, te može postati negativnim u 6% – 10% zaraženih osoba¹⁵.

Uz testove probira, zbog mogućih nespecifičnih, odnosno lažno-pozitivnih rezultata koji se ponekad pojavljuju, potrebno je provoditi dodatna potvrdna testiranja. Za potvrdu anti-HCV reaktivnosti, moguće je koristiti Western blot ili RIBA (Recombinant Immunoblot Assay) postupak, posebice u slučaju negativnih HCV-RNA u kombinaciji s pozitivnim EIA anti-HCV nalazima. Te analize sadrže jednake HCV antigene kao i EIA, ali imaju sposobnost otkrivanja nespecifičnih protutijela protiv proteina kvasaca koji se koriste u pripremi rekombinantnih HCV antigena.

Najbolji način za potvrdu aktivne HCV infekcije jest izvođenje HCV-RNA testa, primjenom PCR (Polymerase Chain Reaction), ili TMA (Transcription Mediated Amplification) postupaka. Otkrivanje HCV-RNA u krvnom serumu ukazuje na aktivnu infekciju. Testiranje na HCV-RNA može se koristiti u bolesnika s oslabljenim imunološkim

odgovorom, ili primjerice u akutnoj fazi infekcije do pojave protutijela. To je postupak izbora za dokazivanje infekcije u nedavnih primatelja organa, ili oboljelih od kroničnoga zatajenja bubrega^{16, 17}.

HCV-RNA može se dokazati tjedan dana do dva tjedna nakon izlaganja virusu. Koncentracija HCV-RNA postupno se povećava, i u pravilu počinje opadati s pojavom protutijela, te može biti prolazno negativna u približno 15% slučajeva. Tijekom prijelaza akutne infekcije u kroničnu infekciju, ALT i HCV-RNA mogu biti povremeno pozitivni. Vjerojatnije je da su trajno pozitivni i mnogo godina nakon infekcije, iako 15% – 25% kronično inficiranih osoba može imati stalno uređan ALT nalaz.

Vrednovanje razine HCV-RNA može se provoditi na više načina. Većina bolesnika s kroničnim hepatitisom C ima razinu između 10^4 i 10^6 kopija HCV-a po mL. Broj virusa nije povezan s težinom hepatitisa C, no može utjecati na odgovor na liječenje. U bolesnika s nižom razinom HCV-RNA, zabilježen je bolji odgovor na liječenje. Određivanje genotipa virusa korisno je u određivanju terapijskoga protokola, a genotip virusa ne mijenja se

tijekom infekcije^{4,18,19}. Tumačenje nalaza dijagnostičkih anti-HCV EIA, RIBA i HCV-RNA testova, prikazano je u tablici 1.

MATERIJAL I METODE

Za određivanje prisutnosti HCV protutijela u serumu, korišten je komercijalni imunoenzimski test treće generacije Abbot, AxSYM (MEIA – Micro-particle Enzyme Immunoassay, Axsym® HCV Version 3.0, Abbott, Wiesbaden, Njemačka). Testom se otkrivaju protutijela koja se stvaraju na strukturnim i nestrukturnim proteinima HCV-a. Axsym HCV-3 sadrži rekombinantne HCV proteine HCr43, c200, c100-3, NS5.

Prisutnost HCV protutijela određivana je usporedbom intenziteta fluorescencije uzorka s graničnom vrijednosti dobivenom računskom AxSYM HCV kalibracijom (srednja vrijednost indeksa kalibracije x 0,12), te je izražena kao S/CO vrijednost (engl. sample rate/cut-off rate). Uzorak se smatra pozitivnim, ako je njegova S/CO vrijednost veća od 1.

Uzorci krvi prikupljeni su venepunkcijom pomoću komercijalnih sustava (Vacutainer SST II

Tablica 1. Tumačenje rezultata pretraga na HCV

Table 1 Interpretation of HCV tests results

Anti-HCV (EIA)	Anti-HCV (RIBA)	HCV-RNK/RNA	Tumačenje <i>Interpretation</i>
Negativan <i>Negative</i>	Negativan <i>Negative</i>	Prikriven <i>Not detectable</i>	Nema trenutačne ni prijašnje infekcije <i>No current or prior infection</i>
Pozitivan <i>Positive</i>	Negativan <i>Negative</i>	Prikriven <i>Not detectable</i>	Nema trenutačne ni prijašnje infekcije <i>No current or prior infection</i>
Pozitivan <i>Positive</i>	Neodređen <i>Undetermined</i>	Prikriven <i>Not detectable</i>	U odsutnosti rizičnih čimbenika, vjerojatno pozitivan EIA <i>In the absence of risk factors, probably positive EIA</i>
Pozitivan <i>Positive</i>	Pozitivan <i>Positive</i>	Prikriven <i>Not detectable</i>	Vjerojatno prijašnja izloženost – kvantitativno RNK testiranje potrebno ponoviti kako bi se isključila fluktuirajuća slaba viremija <i>Probable prior exposure – quantitative RNA testing should be repeated to exclude fluctuated low level viremia</i>
Pozitivan <i>Positive</i>	Pozitivan <i>Positive</i>	Otkriven <i>Detectable</i>	Infekcija u tijeku <i>Infection in course</i>
Negativan <i>Negative</i>	Negativan <i>Negative</i>	Otkriven <i>Detectable</i>	Akutna HCV infekcija ili kronična infekcija u imunokompromitirana bolesnika <i>Acute HCV infection or chronic infection in immunocompromised patient</i>

Advance, BD, SAD). Serumi su odvajani centrifugiranjem, te analizirani 24 sata do 48 sati nakon zaprimanja, uz čuvanje na +4°C. Početno pozitivni uzorci, nakon ponovljenoga centrifugiranja na 10.000 x g RCF (RCF – Relative Centrifugal Force) kroz 10 minuta, retestirani su u duplikatu. Svi ispitivani uzorci pohranjeni su na -20°C.

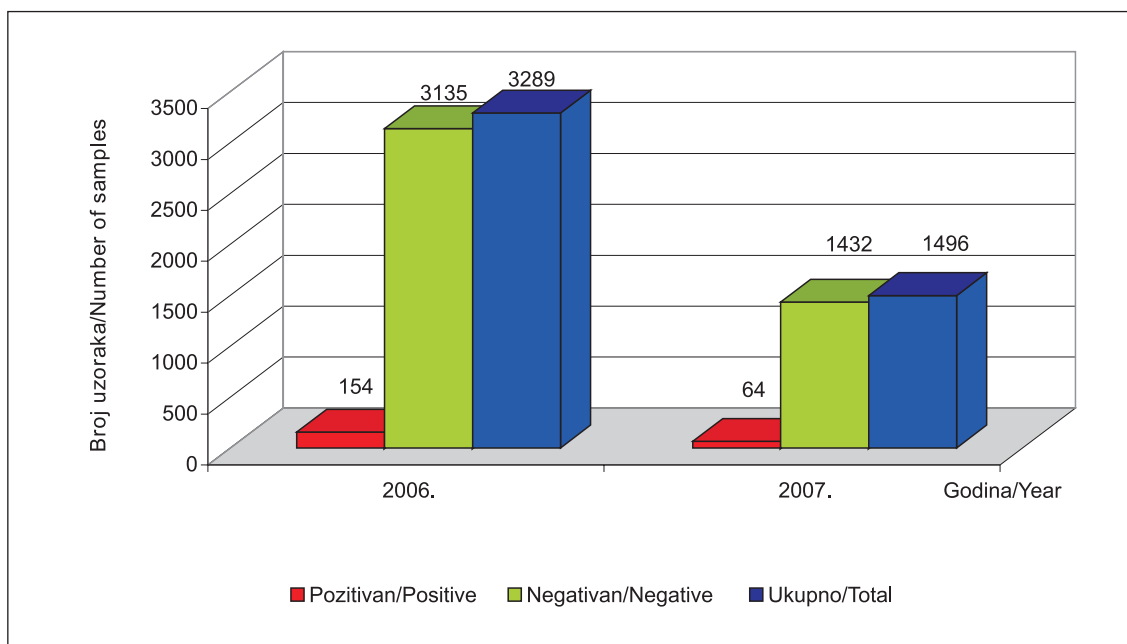
U radu retrospektivno su analizirani rezultati testiranja uzoraka koji su obrađeni u Laboratoriju za serodijagnostiku Nastavnoga zavoda za javno zdravstvo (NZZJZ) Primorsko-goranske županije, u razdoblju od 1. siječnja 2006. do 31. svibnja 2007.

U Laboratoriju je obavljeno ukupno 4785 anti-HCV pretraga seruma stanovnika s područja Primorsko-goranske županije. Serum je dostavljan iz ordinacija opće prakse i specijalističkih ordinacija, iz Kliničkoga bolničkoga centra Rijeka, iz Klinike za ortopediju Lovran, iz Thalassoterapije Opatija, te iz drugih zdravstvenih ustanova s područja Županije. Na ispitivanu uzorku analizirana je ukupna pojavnost seropozitivnih anti-HCV nalaza, te raspodjela prema spolu i dobi. Uz to, analizirana je i raspodjela izmjerenih S/CO vrijednosti. Naime, iako u pravilu nema stroge uzajamne povezanosti između dobivenih vrijednosti EIA testova i stvarno prisutne infekcije, više vrijednosti u testu probira poput EIA-e, ukazuju na manju vjerojatnost da se radi o lažno pozitivnim nalazima.

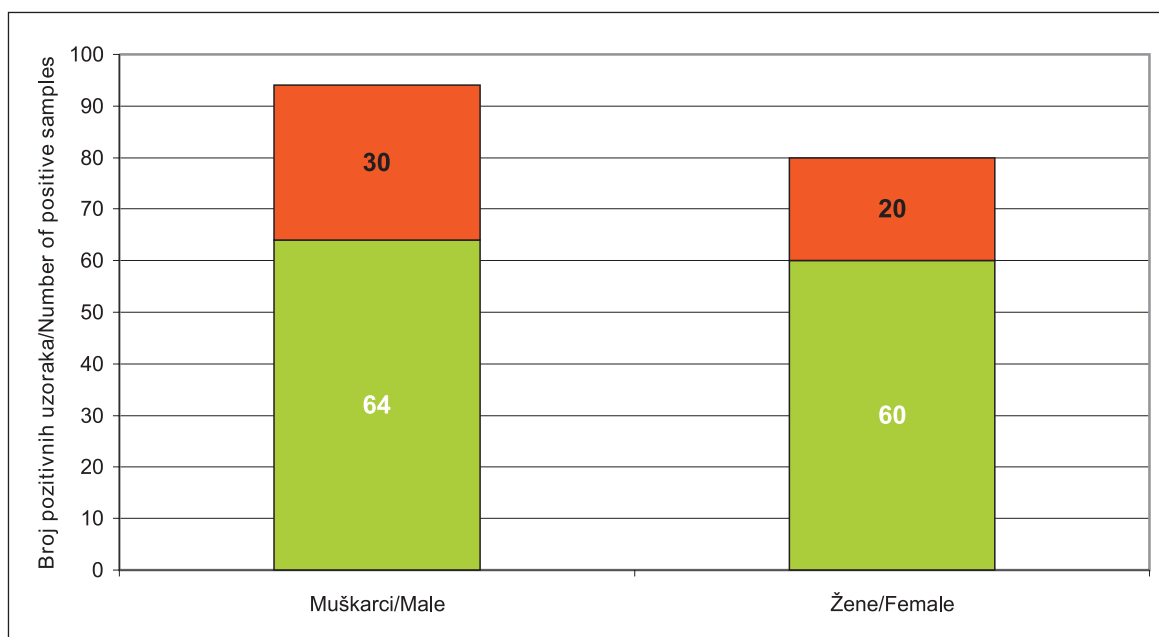
REZULTATI

Od 1. siječnja 2006. do 31. svibnja 2007., u Laboratoriju za serodijagnostiku Mikrobiološkoga odjela NZZJZ-a Rijeka, ukupno je obrađeno 4785 seruma, kako bi se utvrdila prisutnost anti-HCV protutijela. Na osnovi analize dobivenih rezultata ustanovljeno je da je bilo pozitivno 218 anti-HCV testova, odnosno 4,56%. Tijekom godine 2006. obrađeno je ukupno 3289 testiranih uzoraka, odnosno 69%, uza 154 pozitivna anti-HCV nalaza. Godine 2007. tijekom petomjesečnoga razdoblja, obrađeno je ukupno 1496 testiranih uzoraka, odnosno 31%. Rezultati seroloških anti-HCV pretraga u godini 2007. bili su pozitivni (slika 1.). Tijekom analiziranoga razdoblja, u 44 slučaja ponavljane su pretrage seruma anti-HCV pozitivnih osoba. Prema tomu, u analiziranome su razdoblju testirani serumi 4741 osobe. Prema rezultatima EIA pretraga, evidentirane su ukupno 174 anti-HCV pozitivne osobe, odnosno 3,67% od ukupnoga broja testiranih osoba (slika 2.).

Analizom raspodjele pozitivnih bolesnika s obzirom na spol, ustanovljeno je da se 94 nalaza ili 54% odnosi na uzorke muškaraca, a 80 pozitivnih nalaza, odnosno 46% odnosi se na uzorke seruma žena (slika 2.). Raspodjela anti-HCV pozitivnih bolesnika s obzirom na spol, tijekom obiju analiziranih godina bila je podjednaka.



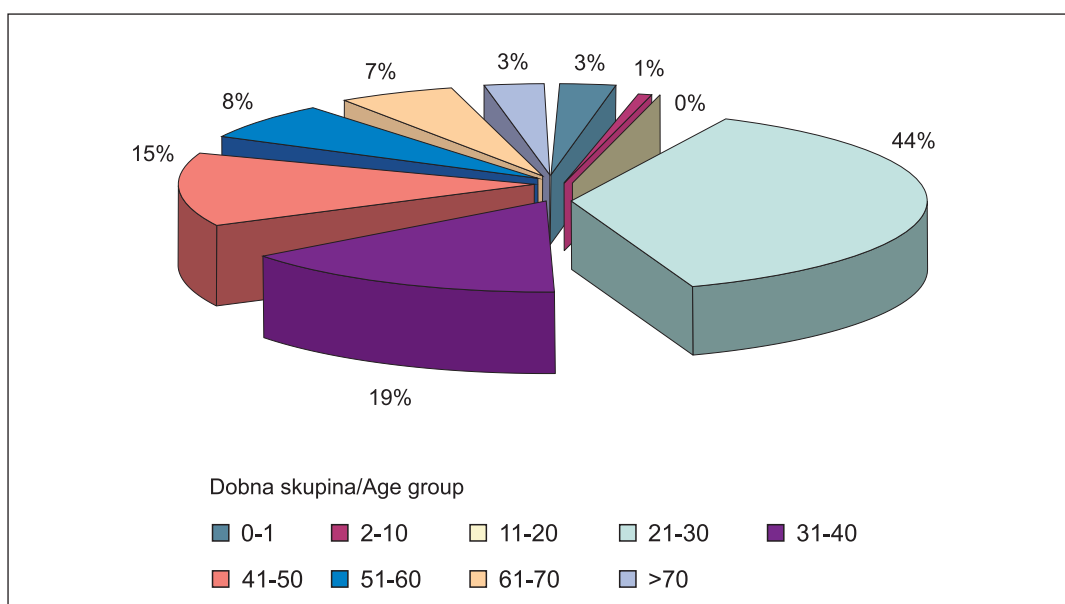
Slika 1. Prikaz pozitivnih i negativnih anti-HCV EIA nalaza tijekom analizirana razdoblja
Figure 1 Positive and negative anti-HCV EIA test results during analysed period



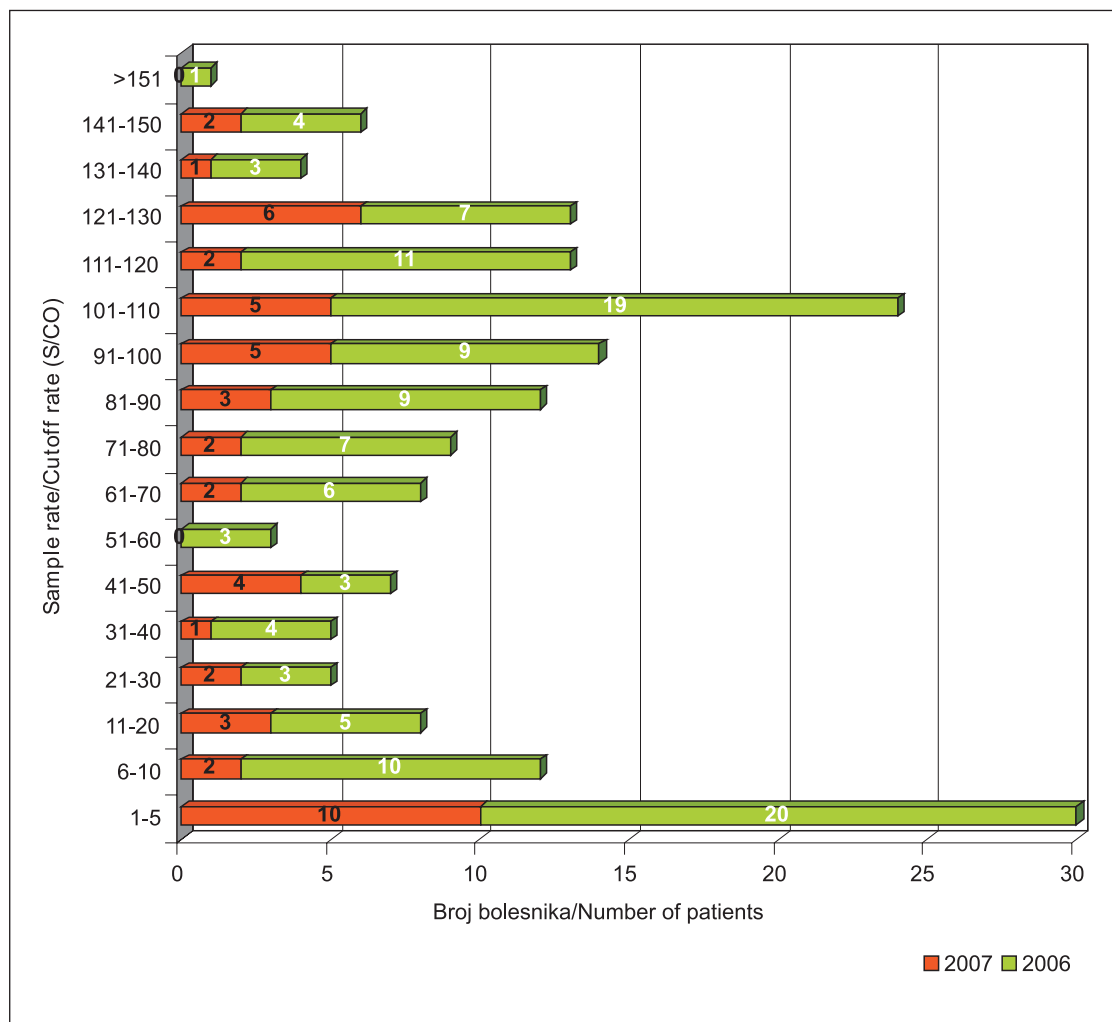
Slika 2. Raspodjela anti-HCV EIA pozitivnih bolesnika prema spolu (N = 174)
 Figure 2 Sex distribution of anti-HCV EIA positive patients (N = 174)

Nadalje, dobna analiza dobivenih rezultata pokazuje da se najveći dio anti-HCV pozitivnih nalaza (115, ili 78%) odnosi na bolesnike koji pripadaju dobnim skupinama od 21 godine do 50 godina. Od ukupno 174 evidentirana bolesnika, najveći broj pripada dobnj skupini od 21 godine do 30 godina (76, ili 44%), potom slijede dobnj skupine od 31 godine do 40 godina (33, ili 19%), te od 41 godine do 50 godina (26, ili 15%). U

dobi nakon 51 godine evidentirana su 32 bolesnika (18%), od kojih je 6 bolesnika starije od 71 godine, 12 bolesnika pripada dobnj skupini od 61 godine do 70 godina, te 14 bolesnika u dobi od 51 godine do 60 godina. Šest pozitivnih nalaza dobiveno je pretragom uzoraka seruma djece u dobi do godine dana, a jedan nalaz dobiven je analizom seruma djeteta u dobi od dviju godina (slika 3.).



Slika 3. Raspodjela anti-HCV EIA pozitivnih bolesnika prema dobi (N = 174)
 Figure 3 Age distribution of anti-HCV EIA positive patients (N = 174)



Slika 4. Prikaz raspodjele anti-HCV EIA pozitivnih nalaza prema S/CO vrijednostima (N = 174)

Figure 4 Distribution of positive anti-HCV EIA test results according to S/CO values (N = 174)

Tijekom analiziranoga razdoblja, vrijednosti S/CO pozitivnih nalaza kretale su se u rasponu od 1,45 do 205,50. Dobivene vrijednosti prikazane su na slici 4. Može se uočiti da su S/CO vrijednosti manje od 10 zabilježene u 42 analizirana uzorka (24%), a ukupni broj uzoraka s izmjerenim vrijednostima manjim od 80 i većim od 81, bio je istovjetan (87).

RASPRAVA

Procjenjuje se da je između 2% i 3% svjetskoga stanovništva inficirano hepatitis C virusom²⁰. Prevalencija HCV-a različita je u pojedinim zemljopisnim područjima. U Skandinaviji inficirano je manje od 0,5% stanovništva. Donekle viša prevalencija, odnosno 1%, ustanovljena je u Sjedinjenim Američkim Državama i u Europi, a izrazito visoka prevalencija ustanovljena je u Egiptu (viša od

20%), u Africi i u Aziji. U Sjedinjenim Američkim Državama i zapadnoj Europi, ciroza uzrokovana kroničnim hepatitisom C, najčešći je razlog za transplantaciju jetre.

Akutna infekcija HCV-om najčešće je asimptomatska, ili prolazi s blagim kliničkim smetnjama, te se u pravilu ne prepoznaje dok ne dođe do većih oštećenja jetre koja se mogu pojaviti i desetljećima nakon infekcije.

HCV virus prenosi se parenteralno, krvlju inficiranih osoba. Do 80-ih godina 20. stoljeća, virus se najčešće prenosio kontaminiranim transfuzijama, te je u to doba više od 15% primatelja krvnih pripravaka bilo izloženo HCV infekciji. Uvođenjem obveznoga testiranja krvi na virus humane imunodeficijencije sredinom 80-ih godina 20. stoljeća, smanjena je učestalost poslijeransfuzijskoga non-A, non-B hepatitisa na približno 5%, zbog česte združenosti infekcije HCV i HIV virusima. Nadalje, otkriće

HCV-a i razvoj dijagnostičkih testova probira za hepatitis C, u najvećoj je mjeri smanjilo učestalost prijenosa HCV-a transfuzijom. Smatra se da je danas rizik prijenosa infekcije transfuzijom i krvnim pripravcima, u zapadnoeuropskim zemljama gotovo zanemarljiv. No, osobe koje su primale transfuziju prije godine 1993., danas su zamjetan "rezervoar" zaraze. Udio nositelja HCV-a u stanovništvu ovisi o pripadnosti pojedinim rizičnim skupinama. Danas, HCV se najčešće pojavljuje u unutarvenskih ovisnika. Približno 50% do 60% unutarvenskih ovisnika inficira se hepatitisom C već tijekom prvih 6 mjeseci korištenja droga, a gotovo 90% tijekom prve godine. Na tu rizičnu skupinu odnosi se više od 60% novoregistriranih bolesnika s hepatitisom C. Hepatitis C virus može se prenijeti korištenjem zajedničkoga pribora za ubrizgavanje, ali i zajedničkim korištenjem pribora za ušmrkavanje opojnih droga. Nadalje, rizičnim skupinama pripadaju i osobe u kojih je izvedena transplantacija, te bolesnici na hemodijalizi među kojima je približno 20% oboljelih od hepatitisa C. Procjenjuje se da je velik broj osoba zaražen i kontaminiranim medicinskim priborom zbog neodgovarajuće sterilizacije u ambulantama, bolnicama, stomatološkim ordinacijama, ali i tijekom tetoviranja i percinga. Infekciji su izložene i osobe s visokorizičnim heteroseksualnim i homoseksualnim spolnim odnosima, zdravstveni djelatnici, te članovi kućanstva HCV kliconoše. Vezano uz dob i socijalno stanje, bolesnici pripadaju svim dobnim skupinama i najrazličitijega su socijalnoga stanja. Ipak, za više od 40% zaraženih ne može se dokazati izvor zaraze, što ukazuje na još uvijek nedovoljnu razjašnjenost putova prijenosa u općoj populaciji²¹.

Prema podacima Hrvatskoga zavoda za javno zdravstvo, tijekom godine dana u Hrvatskoj se prijavljuje približno 200 oboljenja od hepatitisa C, te približno jednaki broj kroničnih nositelja virusa, stoga se procjenjuje da u općoj populaciji u Hrvatskoj ima više od 1% HCV pozitivnih osoba (više od 40.000). Procjene Svjetske zdravstvene organizacije za Republiku Hrvatsku, navode prevalenciju od 1,7% (75.000 zaraženih osoba)²².

U ispitivanome razdoblju tijekom godine 2006. i 2007., u Laboratoriju za serodijagnostiku pretraženo je 4785 uzoraka seruma bolesnika s područja Primorsko-goranske županije. Prema dostupnim podacima, većina obrađenih uzoraka dostavljena je na anti-HCV analizu tijekom medicinske obrade osoba koji pripadaju nabrojenim skupinama s većim rizikom izloženosti infekciji. Približno trećina obrađenih uzoraka odnosi se na bolesnike s određenim jasnim pokazateljima

oštećenja jetrenih funkcija. Manji dio uzoraka dostavljen je na analizu tijekom prijeoperativne obrade, sistematskih i preventivnih pregleda. Manje od 5% obrađenih seruma odnosi se na bolesnike na dijalizi i na zdravstvene djelatnike (neobjavljeni podaci). Anti-HCV EIA pretragom, ustanovljen je pozitivni nalaz u 174 osobe. Podjela anti-HCV EIA pozitivnih osoba s obzirom na spol, ukazuje na gotovo podjednaku zastupljenost muškaraca (54%) i žena (46%).

Evidentirani bolesnici pripadaju dobnim skupinama između godine dana i 80 godina, s najvećim udjelom dobnih skupina između 21 godine i 50 godina (115, ili 78%). Gotovo polovica bolesnika pripada dobnoj skupini između 21 godine i 30 godina (76 bolesnika, ili 44%), a dobna skupina između 31 godine i 40 godina zastupljena je s 33 bolesnika (19%). Takva raspodjela prema dobi najvjerojatnije je u međuovisnosti s visokim udjelom rizičnih skupina, uključujući u prvome redu ovisnike o drogama, upravo u navedenim dobnim skupinama.

U skupini bolesnika mlađih od 20 godina, zabilježeno je 7 anti-HCV pozitivnih osoba (4%). Među njima je bilo 6-ero djece mlađe od godine dana, te dijete u dobi od dviju godina. Tijekom trudnoće, HCV kao i anti-HCV protutijela mogu se pasivno prenijeti iz krvotoka majke u krvotok čeda. Majčina protutijela do navršenih 12 mjeseci u nezaražene dojenčadi u približno 90% slučajeva spontano nestanu, a u sve nezaražene dojenčadi očekuje se njihov nestanak unutar prvih 18 mjeseci. U slučajevima anti-HCV pozitivnoga nalaza u dojenčadi, može se raditi kako o perinatalnoj infekciji tako i o pasivnu prijenosu majčinih protutijela²³, što je moguće razlikovati dodatnim dokazivanjem HCV-RNA jednim od molekularnih dijagnostičkih postupaka.

Prisutnost protutijela u krvi, ukazuje na izloženost HCV infekciji. Tijekom testiranja, koncentracija specifičnih anti-HCV protutijela u serumu uspoređuje se s graničnim vrijednostima. Više koncentracije protutijela povezane su s manjom vjerojatnosti lažno pozitivnih rezultata. Vrijednosti anti-HCV EIA pozitivnih nalaza (S/CO) u uzorcima ispitanika obuhvaćenih ovim istraživanjem, kretale su se u rasponu od 1,45 do 205,50. Vrijednosti niže od 10 zabilježene su u ukupno 42 uzorka seruma (24%). Vrijednosti EIA pretraga seruma troje dojenčadi u dobi do 5 mjeseci, kretale su se u S/CO vrijednostima od 56,80 do 107,84, a u dojenčadi starije od 6 mjeseci izmjerene su vrijednosti bile manje od 2,42. Takvi bi nalazi mogli biti

pokazatelji pasivna prijenosa majčinih protutijela tijekom trudnoće, te njihova postupna nestajanja iz organizma tijekom prvih dviju godina života²³.

Još jednom valja naglasiti da je EIA u prvome redu test probira u slučaju dokazivanja HCV infekcije. U slučaju pozitivnoga nalaza, bolesnike je nužno uputiti na daljnju obradu kako bi se potvrdila serološka reaktivnost, odnosno HCV infekcija. Kao što je već navedeno, za potvrdu anti-HCV serološke reaktivnosti moguće je koristiti metode Western blot ili RIBA, a za potvrdu HCV infekcije koriste se molekularne metode HCV-RNA. U bolesnika koji pripadaju skupinama s niskom prevalencijom hepatitisa C, odnosno u bolesnika s niskim rizikom za HCV infekciju, a koji su anti-HCV EIA pozitivni i HCV-RNA negativni, preporučuje se dodatno izvođenje HCV-RIBA testiranja, kako bi se potvrdila stvarna prijašnja infekcija.

EIA i RIBA testovima ne može se razlikovati akutna, kronična, ili prošla infekcija, s obzirom na to da se HCV protutijela nalaze u krvi u svim navedenim stanjima. Dodatne anti-HCV serološke pretrage pomažu u razjašnjavanju sumnjivo lažno pozitivnih rezultata dobivenih EIA testom²⁴. Pozitivni rezultati anti-HCV EIA testiranja u bolesnika s povišenim vrijednostima jetrenih enzima (ALT, AST), koji pripadaju skupinama s visokom prevalencijom bolesti, s više od 95%-tnom sigurnošću potvrđuju dijagnozu hepatitisa C. S obzirom na to da je u nedavno inficiranih osoba otkrivanje protutijela RIBA postupkom pozitivno u 85% slučajeva, taj se postupak ne preporučuje za dijagnosticiranje hepatitisa C u ljudi s visokim rizikom za nastanak infekcije. U takvih se bolesnika koristi dodatno HCV-RNA testiranje, ali jedino zato da bi se potvrdila aktivna infekcija. HCV-RNA može se dokazati u bolesnika prije no što ALT vrijednosti postanu povišene, te prije pojave anti-HCV protutijela. HCV-RNA pretraga osobito je korisna u imunokompromitiranih bolesnika (hemodijaliza, kemoterapija, HIV infekcija) koji najčešće ne mogu proizvesti dovoljnu količinu protutijela koja bi se mogla otkriti anti-HCV EIA testovima²⁵.

LITERATURA

1. Bartenschlager R, Lohmann V. Replication of hepatitis C virus. *J Gen Virol* 2000;81:1631-48.
2. Choo QL, Kuo G, Weiner AJ, i sur. Isolation of a cDNA clone derived from a blood-borne non-A, non-B viral hepatitis genome. *Science* 1989;244:359-62.

3. Wasley A, Alter MJ. Epidemiology of hepatitis C: geographic differences and temporal trends. *Semin Liver Dis* 2000;20:1-16.
4. Forns X, Bukh J. Methods for determining the hepatitis C virus genotype. *Viral Hepatitis* 1998;4:1-19.
5. Marshall DJ, Heisler LM, Lyamichev V, i sur. Determination of hepatitis C virus genotype in the United States by cleavage fragment length polymorphism analysis. *J Clin Microbiol* 1997;35:3156-62.
6. Bukh J, Miller RH, Purcell RH. Genetic heterogeneity of hepatitis C virus: quasispecies and genotypes. *Semin Liver Dis* 1995;15:41-63.
7. Wiese M, Berr F, Lafrenz M, Porst H, Oesen U. Low frequency of cirrhosis in a hepatitis C (genotype 1b) single-source outbreak in Germany: a 20-year multicenter study. *Hepatology* 2000;32:91-6.
8. Reddy KR, Hoofnagle JH, Tong MJ, i sur. Racial differences in responses to therapy with interferon in chronic hepatitis C. Consensus Interferon Study Group. *Hepatology* 1999;30:787-93.
9. Bendinelli M, Vatteroni ML, Maggi F, Pistello M. Hepatitis C viruses: biology, pathogenesis, epidemiology, clinical description, and diagnosis. U: *Viral hepatitis: diagnosis, therapy, and prevention*. Humana Press Inc., Totowa, NJ 1999:65-127.
10. WHO. Blood Safety and Clinical Technology. Hepatitis C Assays: Operational Characteristics report 2. Geneva: WHO 2001.
11. Charlton M. Natural history of hepatitis C and outcomes following liver transplantation. *Clin Liver Dis* 2003;7:585-602.
12. Engel M, Malta FM, Gomes MM, Mello IM, Pinho JR, Ono-Nita SK, Carrilho FJ. Acute hepatitis C virus infection assessment among chronic hemodialysis patients in the Southwest Parana State, Brazil. *BMC Public Health* 2007;7:50.
13. Aoyagi K, Ohue C, Iida K, i sur. Development of a simple and highly sensitive enzyme immunoassay for hepatitis C virus core antigen. *J Clin Microbiol* 1999;37:1802-8.
14. Alter HJ. New kit on the block: evaluation of second-generation assays for detection of antibody to the hepatitis C virus. *Hepatology* 1992;15:340-53.
15. Barrera JM, Francis B, Ercilla G, i sur. Improved detection of anti-HCV in post-transfusion hepatitis by a third-generation ELISA. *Vox Sang* 1995;68:15-8.
16. Lu RH, Hwang SJ, Chan CY, Chang FY, Lee SD. Quantitative measurement of serum HCV-RNA in patients with chronic hepatitis C: comparison between Amplicor HCV monitor system and branched DNA signal amplification assay. *J Clin Lab Anal* 1998;12:121-5.
17. Ravaggi A, Biasin MR, Infantolino D, Cariani E. Comparison of competitive and non-competitive reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR) for the quantification of hepatitis C virus (HCV) RNA. *J Virol Methods* 1997;65:123-9.
18. Germer JJ, Rys PH, Thorvilson JN, Pershing DH. Determination of hepatitis C virus genotype by

- direct sequence analysis of products generated with the Amplicor HCV test. *J Clin Microbiol* 1999;37:2625-30.
19. Marshall DJ, Heisler LM, Lyamichev V, i sur. Determination of hepatitis C virus genotype in the United States by cleavage fragment length polymorphism analysis. *J Clin Microbiol* 1997;35:3156-62.
 20. WHO. Hepatitis C – global prevalence (update). *Wkly Epidemiol Rec* 1999;74:425-7.
 21. Karmochkine M, Carrat F, Dos Santos O, Cacoub P, Raguin G. A case-control study of risk factors for hepatitis C infection in patients with unexplained routes of infection. *J Viral Hepat* 2006;13:775-82.
 22. Kosanović ML, Knežević J. Epidemiološke karakteristike osoba testiranih na hepatitis C u okviru akcije “Hepatitis C – otkrij, spriječi, izliječi” u Zavodu za javno zdravstvo grada Zagreba. *HČJZ* 2006;2(8).
 23. Dal Molin G, D’Agaro P, Ansaldi F, Ciana G, Fertz C, Alberico S, Campello C. Mother-to-infant transmission of hepatitis C virus: rate of infection and assessment of viral load and IgM anti-HCV as risk factors. *J Med Virol* 2002;67:137-42.
 24. Pawlotsky JM, Lonjon I, Hezode C, i sur. What strategy should be used for diagnosis of hepatitis C virus infection in clinical laboratories? *Hepatology* 1998;27:1700-2.
 25. Saldanha J, Lelie N, Heath A. Establishment of the first international standard for nucleic acid amplification technology assays for HCV RNA. *Vox Sang* 1999;76:149-58.