

**МЕДИЦИНСКИ УНИВЕРСИТЕТ – ПЛЕВЕН  
ФАКУЛТЕТ „ОБЩЕСТВЕНО ЗДРАВЕ“  
КАТЕДРА „ИНФЕКЦИОЗНИ БОЛЕСТИ, ЕПИДЕМИОЛОГИЯ,  
ПАРАЗИТОЛОГИЯ И ТРОПИЧЕСКА МЕДИЦИНА”**

**Д-Р КАЛИНА ДИМИТРОВА ТЕРЗИЕВА**

**ВИРУСЕН ХЕПАТИТ С –  
ЕПИДЕМИОЛОГИЧНИ, СОЦИАЛНО-ДЕМОГРАФСКИ,  
КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНИ И ВИРУСОЛОГИЧНИ  
ПРОУЧВАНИЯ**

**А В Т О Р Е Ф Е Р А Т**

**НА ДИСЕРТАЦИОНЕН ТРУД**

**за присъждане на образователна и научна степен  
„ДОКТОР”**

**Научна специалност: Епидемиология**

**Научни ръководители: Доц. д-р Галя Ганчева, д.м.  
Доц. д-р Милена Карчева, д.м.  
Научен консултант: Доц. д-р Димитър Шаламанов, д.м.**

**Плевен, 2022 г.**

Дисертационният труд е написан на 225 страници и е онагледен с 13 таблици и 85 фигури. Библиографската справка съдържа 444 заглавия, от които 76 на кирилица и 368 на латиница.

Дисертационният труд е обсъден и предложен за защита на заседание на разширен катедрен съвет на катедра „Инфекциозни болести, епидемиология, паразитология и тропическа медицина”, състоял се на 09.03.2022 г. – Протокол № 14/00.03.2022 г.

Официалната защита на дисертационния труд ще се състои на 02.06.2022 г. от 11.00 ч. В.....  
съгласно Заповед на Ректора на МУ-Плевен № 995/29.03.2022 г., пред научно жури в състав:

Вътрешни за МУ – Плевен:

1. Доц. д-р Бисер Кирилов Борисов, д.м.
  2. Доц. д-р Димитър Симеонов Шаламанов, д.м
- Резервен член: Доц. д-р Милена Димитрова Карчева, д.м.

Външни за МУ-Плевен:

1. Проф. д-р Виктория Цветанова Дойчева, д.м.
  2. Проф. д-р Ани Кеворк Кеворкян-Сариян, д.м.
  3. Полк. Доц. д-р Иван Константинов Попиванов, д.м.
- Резервен член: Доц. д-р Йорданка Иванова Митова-Минева, д.м.

Материалите по защитата са публикувани на интернет страницата на МУ-Плевен [www.mu-pleven.bg](http://www.mu-pleven.bg)

**МЕДИЦИНСКИ УНИВЕРСИТЕТ – ПЛЕВЕН  
ФАКУЛТЕТ „ОБЩЕСТВЕНО ЗДРАВЕ“  
КАТЕДРА „ИНФЕКЦИОЗНИ БОЛЕСТИ, ЕПИДЕМИОЛОГИЯ,  
ПАРАЗИТОЛОГИЯ И ТРОПИЧЕСКА МЕДИЦИНА”**

**Д-Р КАЛИНА ДИМИТРОВА ТЕРЗИЕВА**

**ВИРУСЕН ХЕПАТИТ С –  
ЕПИДЕМИОЛОГИЧНИ, СОЦИАЛНО-ДЕМОГРАФСКИ,  
КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНИ И ВИРУСОЛОГИЧНИ  
ПРОУЧВАНИЯ**

**А В Т О Р Е Ф Е Р А Т**

**НА ДИСЕРТАЦИОНЕН ТРУД**

**за присъждане на образователна и научна степен  
„ДОКТОР”**

**Научна специалност: Епидемиология**

**Научни ръководители: Доц. д-р Галя Ганчева, д.м.**

**Доц. д-р Милена Карчева, д.м.**

**Научен консултант: Доц. д-р Димитър Шаламанов, д.м.**

**Плевен, 2022 г.**

# **СЪДЪРЖАНИЕ**

## **Въведение**

### **Глава I. Цел, задачи, материали и методи**

- 1. Цел и задачи**
- 2. Материали и методи**
  - 2.1. Проучвани контингенти**
  - 2.2. Описателен метод**
  - 2.3. Документален метод**
  - 2.4. Лабораторен метод**
  - 2.5. Статистически метод**
  - 2.6. Метод на експертна оценка**
  - 2.7. Метод на епидемиологичното проучване**

**Глава II. Резултати от проучвания и обсъждането им относно заболяемост и регистрирани случаи на вирусен хепатит С в Р България и регистрирани случаи на вирусен хепатит С в област Плевен за периода 2008-2021 г.**

**Глава III. Резултати от епидемиологични проучвания на случаи с лабораторно потвърден вирусен хепатит С и обсъждането им**

- 1. Проучвания на демографски показатели (възраст, пол) на случаи с лабораторно потвърден вирусен хепатит С**
- 2. Проучвания на рискови фактори относно хепатит С при случаи с лабораторно потвърден вирусен хепатит С**

**Глава IV. Резултати от проучвания на хоспитализирани болни с водеща диагноза вирусен хепатит С или придружаващ такъв и обсъждането им**

- 1. Анализ на анамнестичните данни**
- 2. Анализ на коморбидитета**
- 3. Анализ на клинични симптоми и синдроми**
- 4. Анализ на клинично-лабораторни показатели**

**Глава V. Резултати от проучвания относно разпространение и молекулярно-генетична характеристика на HCV сред донори на кръв**

- 1. Определяне на генотип и субгенотип**
- 3. Обсъждане на получените резултати**

**Глава VI. Резултати от проучвания относно молекулярно-генетични индикатори като част от епидемиологично проучване на пациенти с вирусен хепатит С**

**Глава VII. Резултати от проучвания относно молекулярно-генетични индикатори на пациенти с вирусен хепатит С**

- 1. Работен протокол**
- 2. Определяне на генотип и субгенотип**
- 3. Определяне на вирусен товар**
- 4. Обсъждане и обобщаване на получените резултати**

**Глава VIII. Разработване и апробиране модели на епидемиологично проучване на лица с доказан вирусен хепатит С от актуални рискови групи в област Плевен.**

- 1. Разработване на критерии за комплексно епидемиологично проучване на случаи с вирусен хепатит С с използване на класически и молекулярно-генетични методи**
- 2. Представяне на модел на епидемиологично проучване при вирусен хепатит С**

**Глава IX. Оптимизиране на епидемиологичния контрол при вирусен хепатит С чрез разработване на алгоритъм с приложение на социално-демографски показатели и генетични маркери в епидемиологичните проучвания**

- 1. Подбор на социалнодемографски и молекулярно-генетични показатели с епидемиологична стойност за включване в схемата на алгоритъма**
- 2. Описание на алгоритъм за ранна диагноза на вирусен хепатит С.**

**Глава X. Изводи**

**Заключение**

**Приноси**

## Съкращения

АХ – артериална хипертония  
АФ – алкална фосфатаза  
ВБИ – вътреболнични инфекции  
ВМА – Военномедицинска академия  
ВХ А – вирусен хепатит А  
ВХ В – вирусен хепатит В  
ВХ С – вирусен хепатит С  
ВХ D – вирусен хепатит D  
ВХ Е – вирусен хепатит Е  
КТ – компютърни томографии  
МЛС – места за лишаване от свобода  
НЗОК - Национална здравноосигурителна каса  
НЦЗПБ – Национален център по заразни и паразитни болести  
ОБН – остра бъбречна недостатъчност  
ОДН – остра дихателна недостатъчност  
ОЧН – остра чернодробна недостатъчност  
ХД – хемодиализа  
ЦНС – централна нервна система  
РЗИ – Регионална здравна инспекция  
РЦТХ – Регионален център по трансфузионна хематология  
ЦТХ – Център по трансфузионна хематология  
ЧБП – чернодробни биохимични показатели  
АLАТ – аланинаминотрансфераза  
ASAT – аспартатаминотрансфераза  
Alb – албумини  
Bil – билирубин (в урина)  
BUN – урея  
chol – холестерол  
CI – доверителен интервал  
Cl – хлор  
CRP - реактивен протеин  
d. bil. – директен билирубин  
Eг – еритроцити  
f-gen – фибриноген  
GGT – гама-глутамилтрансфераза  
Gran – гранулоцити  
HBV – хепатитен вирус В  
HCV – хепатитен вирус С  
Hg – хемоглобин  
HIV – Human immunodeficiency virus  
Ht – хематокрит  
IgG – имуноглобулини М  
IgM – имуноглобулини G  
IL-1 – интерлевкин 1  
IL-6 – интерлевкин 6  
K<sup>+</sup> – калий  
LDH – лактатдехидрогеназа  
Log – логаритъм  
Ly – лимфоцити  
max – максимална стойност  
MCV – среден обем на еритроцити  
min – минимална стойност  
Mo – моноцити  
N – норма  
n – брой изследвани пациенти  
NA – не е възможно  
Na – натрий  
PI – протромбинов индекс  
PLT – тромбоцити  
sd – standart deviation – стандартно отклонение  
Sg – сегментоядрени левкоцити  
SHE – серумна холинестераза  
St – пръчкоядрени левкоцити  
T bil – общ серумен билирубин  
T-лимфоцити  
TP – общ белтък  
u-gen – уробилиноген  
WBC – левкоцити

## ВЪВЕДЕНИЕ

Вирусен хепатит С (ВХ С) е една от най-широко проучваните инфекции в нашето съвремие. Това е продиктувано от характеристиката на заболяването: скрито начало за силно преобладаващата част от заболяванията, тенденция към агресивно развитие и реална опасност от късни рецидиви с потенциал за развитие на цироза и хепатоцелуларен карцином; ко-инфектиране с причинители на други инфекциозни заболявания (на първо място тежките инфекции туберкулоза и СПИН); продължително и дори пожизнено вирусоносителство при настъпило хронифициране; нарушен комфорт на живот и загуба на трудоспособност в късните стадии; необходимост от стриктно спазване на строг ограничителен и диетичен режим (в много случаи пожизнено); глобално разпространение от типа бавни/незабележими епидемии (т.нар. „silence epidemic”); предаване на причинителя по няколко механизма с участието на много фактори от средата и съответно по много пътища; доказана връзка с медицинско и стоматологично обслужване на населението и опасностите, които се създават за поява на вътреболнични/нозокомиални инфекции; рискове за медицинския персонал при изпълнение на инвазивни, най-вече кръвни процедури върху болни и носители на вируса; скъпоструващо лечение, формиращо социалната тежест; интердисциплинарен характер на заболяването, което изисква тясна колаборация и приемственост в лечебната и превантивна дейност на широк кръг медицински специалисти – инфекционисти, епидемиолози, гастрентеролози, вирусолози, стоматолози, общопрактикуващи лекари; връзка с дейности от социален характер, напр. медицински експертизи; психологични проблеми (депресия) у заболелите лица при затегнато протичащи клинични форми.

Засилващият се темп на миграция на хора между високо и ниско ендемични страни и недостатъчният епидемиологичен контрол в развиващите се страни е един от съвременните важни фактори, който прави заболяването актуално в момента. Явлението наркомания във вариантите инжекционно (венозно) и интраназално прилагане, характерно предимно за Европа, Северна Америка и Австралия, е друг подобен фактор. Нетрадиционни сексуални практики и боди - арт процедури, съпътстващи нашето съвремие представляват допълнителен риск за експозиция с вируса.

Насоченото разглеждане на някои от гореизложените обстоятелства от епидемиологична гледна точка откроява следните акценти: 1. Продължителният инкубационен период (определено по-дълъг от инкубационните периоди на останалите тривиални инфекциозни заболявания) с формиране на виремия преди появата на оплаквания, е фактор с неблагоприятно влияние за обкръжението на болния/носител, защото създава предпоставки за поява на нови заразявания. Реално, през това време вирусът може да бъде извеждан от източниците на инфекция при различни манипулации, или излъчван по естествен (сексуален) път – средно няколко седмици преди развитието на клиничната симптоматика и преди сероконверсията. 2. В подобна насока се оценява и клиничното протичане на значителна част от заболяванията като безсимптомни форми – над 80 %. 3. За осъществяване на ефективно инфектиране е достатъчно изключително малко количество кръв, тъй като инфектиращата доза е много ниска. 4. Някои социално-икономически условия от съвременната действителност в лечебните заведения за болнична и извънболнична помощ допринасят за поява на ВХ С като вътреболнична инфекция. Основните фактори в това отношение са неадекватно проведена стерилизация/дезинфекция в лекарските и стоматологичните практики и лечебните заведения, резултат на обективни (проблеми с апаратура и консумативи) и субективни (недостатъчна квалификация и отговорност на персонала) причини. Възникналите случаи по този начин на заразяване са показател за неспазени стандарти на инфекциозна безопасност. 5. Поради непознаване на заболяването до преди няколко десетилетия, в момента в световния резервоар на инфекцията има немаловажен дял източници на инфекция, заразени след кръвопреливане, хемодиализа или някакви други инвазивни медицински процедури. 6. Полиетиологията (причинителят има 7 основни генотипа, заедно със субгенотиповете – т.н. квазитипове, броят им надминава 80; а генетичните различия между вирусите, паралелно заразили двама човека от различни източници на инфекция, може да са до 35 %), възпрепятствана разработването на ефикасна ваксина.

Заедно с това е важно да се отбележи, че през последните няколко десетилетия медицинската наука постигна фундаментални успехи в изучаването на ВХ С. Това даде сериозен тласък в цялостната борба със заболяването. Разкриха се детайлите на патогенезата и се усъвършенства диагностиката. С внедряването на маркери за антигени и антитела беше усъвършенствана диагностично-лечебната дейност в инфекциозните и гастроентерологичните болнични структури. Значими положителни резултати се отбелязаха и в превенцията в центровете за трансфузионна хематология – в областта контрол на кръводаряването, както и в кръвната индустрия по контрола на биопродуктите за терапия. Всичко това допринесе за чувствително намаляване интензивността на епидемичния процес в редица страни. От няколко години в процес на внедряване са перспективни етиотропни средства срещу причинителя – т.н. „директно действащи антивирусни медикаменти”, с които се очаква постигане на прелом в терапията. Резултатите от няколкогодишната практика дават основание за оправдан оптимизъм и този нов терапевтичен подход безспорно ще се отрази благоприятно върху статуса на немалка част от болелите. Високо-ефективното лечение ще даде и протиепидемичен ефект, понеже броят на източниците на инфекция ще започне да намалява. Не е сигурно обаче дали това ще става едновременно във всички региони на света, с достатъчни темпове и с пълно обхващане на случаите, тъй като не всички страни ще имат финансови ресурси за бързо въвеждане на новата радикална терапия. Следователно, само чрез етиологична терапия в близкото бъдеще няма да може да се разчита на трайно ликвидиране на резервоара на инфекция в човешкото общество. Досегашната практика показва, че основната мярка за елиминация и ерадикация си остава превантивната имунизация. Примерите с вариола, полиомиелит и дифтерия категорично потвърждават това. На съвременния етап обаче, за вирусен хепатит С този въпрос изобщо не е решен. Няма и обнадеждаващи данни относно перспективата за решаване.

Разнообразните страни в характеристиката на вирусен хепатит дават основание за следните разсъждения относно превенцията на заболяването. След като основната превантивна дейност понастоящем не може да бъде насочена към третото звено на епидемичния процес – повишаване на невъзприемчивостта, следва да провеждаме мерки спрямо първите две звена – източниците на инфекция и механизмите на предаване. Епидемиологичното проучване заема ключово място в цялостния контрол, защото посредством този метод се изясняват важни количествени, качествени, териториални и редица други страни на епидемичния процес и на тяхна база се адаптират мероприятията за борба. Съвременен направление в епидемиологичните проучвания на заболяванията с полиетиологична характеристика е определяне на генетичните маркери на причинителите. За разглежданата инфекциозна болест това положение е от особена важност главно поради генетичната вариабилност на биопатогена, придаваща своеобразна териториална и социална характеристика на разпространение. Изясняването на биологичната компонента на епидемичния процес на ниво вирус става посредством молекулярно-генетични лабораторни техники. В порядък на апробация, в настоящата разработка приложихме две такива лабораторни техники, препоръчвани от водещите международни институции по контрола на инфекциите. От друга страна, върху проявлението на епидемичния процес при ВХ С много отчетливо влияят социалните условия, фактори и взаимовръзки. Показателен пример е спецификата на обособените рискови популационни групи. За изясняване на тази компонента на епидемичния процес са необходими точни социално-демографски данни. Затова си поставихме цел в тази насока – да се прецизират критериите при изясняване на социално-демографския статус на болните и носителите при нашите условия.

Това са основанията ни за заглавието на разработваната дисертационна тема с цел да насочим вниманието си към социални и биологични индикатори на епидемичния процес. В епидемиологичен контекст, темата кореспондира с един от основните теоретични постулати на съвременната епидемиология на инфекциозните болести – за биосоциалната същност на епидемичния процес. Заболяването ВХ С демонстрира съчетаното влияние на биологични и социални фактори при разпространението си. Смятаме, че с по-задълбочено изучаване на тези фактори ще допринесем за оптимизиране на епидемиологичното проучване при болестта. Надяваме се това да помогне за изясняване на общата епидемична обстановка в страната и да допринесе за по-ефективна профилактика на заболяването.



## **ЦЕЛ:**

Създаване на надежден мултидисциплинарен подход за ранна диагноза, епидемиологично проучване и превенция на вирусен хепатит С.

## **ЗАДАЧИ:**

1. Епидемиологични проучвания на серологично доказани болни от ВХ С.
2. Социално-демографски проучвания на серологично доказани болни от ВХ С, регистрирани в Плевенска област.
3. Проучвания на клинични симптоми и синдроми при хоспитализирани болни с ВХ С; оценка на тежестта на клиничното протичане.
4. Проучвания на рутинни лабораторни показатели при болни от ВХ С (хематологични показатели; уринен анализ; чернодробно-биохимични показатели; показатели, характеризиращи въглехидратната и белтъчната обмяна; хемостазни показатели; азотни показатели; серумни електролити; С-реактивен протеин).
5. Проучвания на клинични и лабораторни показатели при различни по тежест форми на ВХ С – леки, средно тежки и тежки.
6. Проучвания върху генетичния профил на лица с доказан ВХ С от област Плевен и страната.
7. Определяне на вирусен товар.
8. Определяне на генотип и субгенотип на HCV.
9. Извеждане на диагностичен алгоритъм за ранна диагноза на ВХ С.

## **МАТЕРИАЛИ:**

Проучени са популационни извадки от различни райони на Р България, включващи и **лица с доказан вирусен хепатит С от актуални рискови групи в област Плевен.**

Проучванията обхващат двегодишен период (2017 – 2018 г.), през който в различни клиники на УМБАЛ „Д-р Георги Странски“ – Плевен са лекувани 38 болни от ВХ С.

## **МЕТОДИ:**

1. **Анкетно проучване – интервю**
2. **Документален метод** – за хоспитализираните болни са използвани данни от „История на заболяване“, епикризи
3. **Клинични методи** – снемане на подробна анамнеза, включваща и епидемиологични аспекти; данни за минали и/или придружаващи заболявания; обективен статус.
4. **Лабораторни методи** – рутинни параклинични изследвания (извършени в Централна клинична лаборатория на УМБАЛ “Георги Странски” – Плевен):
  - 4.1. **Пълна кръвна картина с диференциално броене** – с хематологичен брояч AVL 818 и Култеркаунтер.
  - 4.2. **Чернодробно-биохимични показатели:**
    - 4.2.1. **Общ серумен билирубин с фракции** – по Lendrassik L. (1938; P. Grof 1981).
    - 4.2.2. **ASAT и ALAT** – методът е по препоръката на международната федерация по клинична химия IFCC (Bergemeyer H., M. Horder et al., J Clin Chem Clin Biochem, 1986, 24, 497).
    - 4.2.3. **Алкална фосфатаза** – с Optimized standart method, The Deutche Gessellschaft fur Klinische Chemie.
    - 4.2.4. **Гама-глутамилтрансфераза (GGT)** – кинетично фотометрично определяне по Szasz.
    - 4.2.5. **Лактатдеhidрогеназа (LDH)** – оптимизиран тест по DGKG.
  - 4.3. **Азотни показатели:**
    - 4.3.1. **Кръвна урея** – урикасен тест GLDH.
    - 4.3.2. **Серумен креатинин** – метод на Jaffe.
  - 4.4. **Серумни електролити:**
    - 4.4.1. **Натрий** – директно измерване с йонселективен електрод.
    - 4.4.2. **Хлор** – директно измерване с йонселективен електрод.
    - 4.4.3. **Калий** – директно измерване с йонселективен електрод.
  - 4.5. **Въглехидрати:** кръвна глюкоза – ензимно определяне PAP.

**4.6. Протеини:** Количествено определяне на общ белтък чрез колориметричен метод на принципа на биуретовата реакция и количествено определяне на албумини чрез бромкрезолов метод, извършени на биохимичен анализатор Hitachi 704 ; протеинограма – чрез електрофореза на серумните белтъци по Alfonso E. (Clin Chim Acta, 7, 1961, 883) и модификация по Каракашов А., Х. Пандов (Клинична лаборатория, 1970, МФ, София, 219); електрофоретично определяне на плазмени протеини по Laurel A. H. (1957).

**4.6.1. Общ белтък**

**4.6.2. Албумини**

**4.7. Хемостазни показатели:**

**4.7.1. Фибриноген** – автоматично коагулометрично определяне на количество по Claus.

**4.7.2. Протромбинов индекс** – едностъпален тест по Quick.

**4.8. Уринен анализ:** жлъчни пигменти – експресно определяне с тест-ленти

**5. Серологични изследвания** – извършени в Микробиологична лаборатория на УМБАЛ – Плевен

**5.1. anti HAV IgM**

**5.2. HBs Ag**

**5.3. anti HBc IgM**

**5.4. anti HCV** – лабораторното потвърждаване при откриване на случай с диагноза вирусен хепатит С е извършено по критерий „Доказване на специфичен антияло отговор срещу HCV чрез тест за антитела” по ELISA, кит Dia.Pro Diagnostic Bioprobes HCV Ab.

**5.5. anti HEV IgM**

**6. Ултрасонографски изследвания** – ехографии на коремни органи с ултрасонограф ALOKA Pro Sound SSD 4 000 с променлива честота 3,8 – 6,0 MHz.

**7. КТ изследвания** – нативни компютърни аксиални томографии на коремни органи и ЦНС с компютърен томограф SOMATOM – ARC Siemens чрез срезове през 5 или 10 mm.

**8. Молекулярногенетични методи.**

**8.1. Определяне на генотип и субгенотип на HCV**

**8.2. Определяне на вирусен товар**

Определянето на генотипа и вирусния товар е направено в Лаборатория по вирусология на Военно-медицинска академия – София. Изследванията са извършени по метода полимеразно-верижна реакция в реално време (Real Time PCR), разновидност на NAT. Диагностичният пакет включва качествен и количествен вариант на методиката. Използвани са апарат DTLite Real Time PCR System (DNA-Technology, Русия) и търговски китове на Sacace Biotechnologies, Италия за екстракция на РНК (Ribo Virus) и генотипиране/субгенотипиране на HCV (HCV Genotype Plus Real-TM), доставени от ЕЛТА 90М. Предвид установените до сега генотипни варианти в страната ни и в Европа, е избран кит за детекция на 1a, 1b, 2, 3, 4, 5a и 6 генотипове/субгенотипове.

Долната граница за чувствителност на теста за качествен вариант на методиката RT-PCR е 50 вирусни копия в 1 мл кръв, под която пробите се приемат за отрицателни, а над тази граница за положителни. Количествено определяне е извършено само на пробите с положителен качествен тест. Стойностите на вирусния товар в технологичната стъпка амплификация са определяни в международни единици (IU), а окончателният резултат е представен като брой копия вирусна РНК в 1 мл кръв, след преизчисляване по формула на търговския кит. За целта е използван коефициент 3,2; т.е., всяка IU е равна на 3,2 копия РНК.

**9. Статистически методи:**

Данните са въведени и обработени със статистическите пакети IBM SPSS Statistics 19.0 и MS Excel v. 2010.

За анализ на получените резултати са използвани следните методи на медицинската статистика:

**9.1. Определяне на относителни дялове на качествени признаци;**

**9.2. Определяне на показатели за централни тенденции при количествени променливи** – изчисляване на средни аритметични величини (average); изчисляване на мода (mode) и медиана (median) при неравномерни вариационни редове.

**9.3. Определяне на показатели за разсейване** – изчисляване на стандартни отклонения (sd) и доверителни интервали (CI);

**9.4. Сравняване на средни величини и качествени признаци (t-критерий), корелационен анализ на качествени алтернативни признаци (φ-коефициент – чрез модифицирана формула на коефициента на корелация на Пирсон; критерий за факторно влияние – odds ratio (OR) и еднофакторен дисперсионен анализ при неравномерен комплекс (ANOVA).**

Статистическа достоверност е приета при  $p < 0,05$ .

При използване на φ-коефициент чрез модифицирана формула на коефициента на корелация на Пирсон за оценка на корелация е използвана 5-степенна скала: слаба корелационна зависимост при  $\phi < 0,3$ ; умерена – при  $0,31 < \phi < 0,5$ ; значителна корелационна зависимост при  $0,51 < \phi < 0,7$ ; голяма корелационна зависимост при  $0,71 < \phi < 0,9$ ; изключително голяма корелационна зависимост при  $\phi > 0,9$ .

При използване на критерий за факторно влияние (odds ratio – OR) риск от въздействие на проучвания фактор се приема при  $OR > 1,0$ , като степента на риска нараства с увеличаване на OR.

За онагледяване на статистическите резултати са използвани таблици и графики.

#### **10. Метод на експертна оценка**

#### **11. Метод на епидемиологичното проучване**

### **РЕЗУЛТАТИ:**

**Глава II. Резултати от проучвания и обсъждането им относно заболяемост и регистрирани случаи на ВХ С в Р България и регистрирани случаи на ВХ С в област Плевен за периода 2008-2021 г.**

Направено е ретроспективно проучване относно заболяемостта от ВХ С и регистрираните случаи на ВХ С за страната и регистрираните случаи на ВХ С в област Плевен за периода 2008-2021 г. (**Таблица 1**).

Резултатите показват тенденция за спад на заболяемостта към края на проучения период в сравнение с началото на периода, корелираща с броя на регистрираните случаи. В анализа обаче не могат да бъдат включени обективно последните 2 години от периода, тъй като възникването на пандемията от COVID-19 промени драстично профила на медицинските услуги във всички сфери на здравната система в страната – въвеждане на ограничителни предпазни мерки, редуциране на профилактични прегледи и изследвания, спиране за различни периоди на планови хоспитализации с оглед приоритетна хоспитализация на пациенти с COVID-19 инфекция, промяна в спектъра на дейности на редица лаборатории (акцентирайки усилията върху изследвания на пациенти с COVID-19) до пълно преустановяване на изследвания, несвързани с такива пациенти.

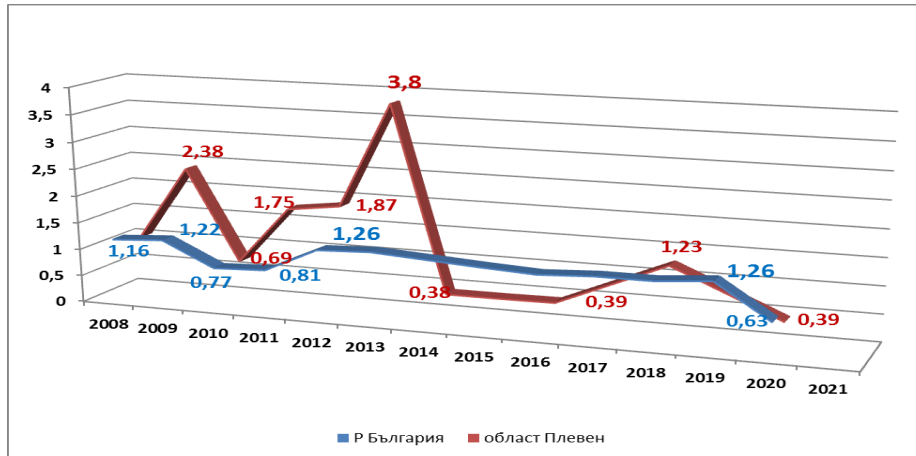
Независимо от тези факти, изключвайки последните две години от проучвания период може да се отчете известен спад по отношение заболяемостта за страната, което е свързано с въвеждането и изпълнението на профилактични мерки, касаещи кръводаряването и изследването на донорска кръв, както и дейности, насочени към конкретни рискови групи. Този извод се подкрепя от трендовете, видни на **Фиг. 1**, **Фиг. 2** и **Фиг. 3**.

Стойността на показателя оценяваме като положителен, но най-вероятно неотговарящ на действителния поради негативното влияние на пандемията от COVID-19 – фокусиране на здравните дейности върху това заболяване и оставяне на заден план на почти всички други заболявания – хронични, онкологични и др.

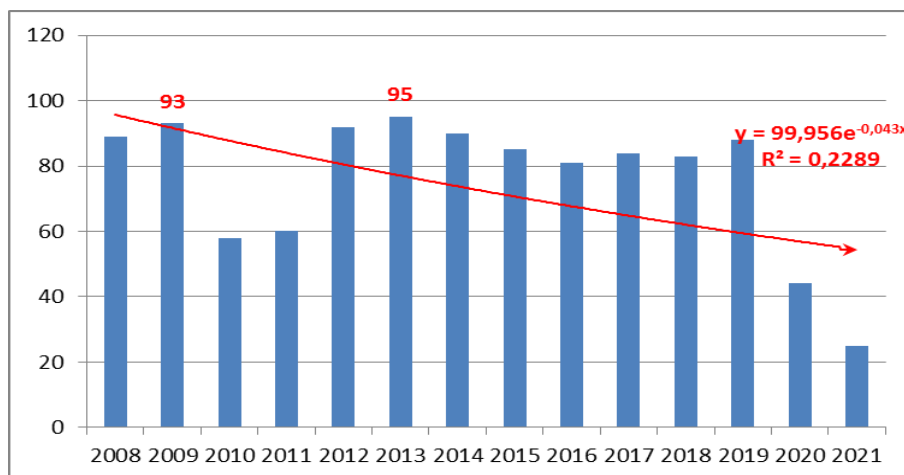
**Таблица 1. Заболяемост от ВХ С и регистрирани случаи на ВХ С в Р България и в област Плевен (2008-2021 г.)**

Година	Р България – заболяемост	Р България – брой случаи	област Плевен (РЗИ) – заболяемост	област Плевен (РЗИ) – брой случаи	p
2008	1,16	89	1,01	3	>0,05
2009	1,22	93	2,38	7	<0,05
2010	0,77	58	0,69	2	>0,05
2011	0,81	60	1,75	5	<0,05
2012	1,26	92	1,87	5	<0,05
2013	1,30	95	3,8	10	<0,05

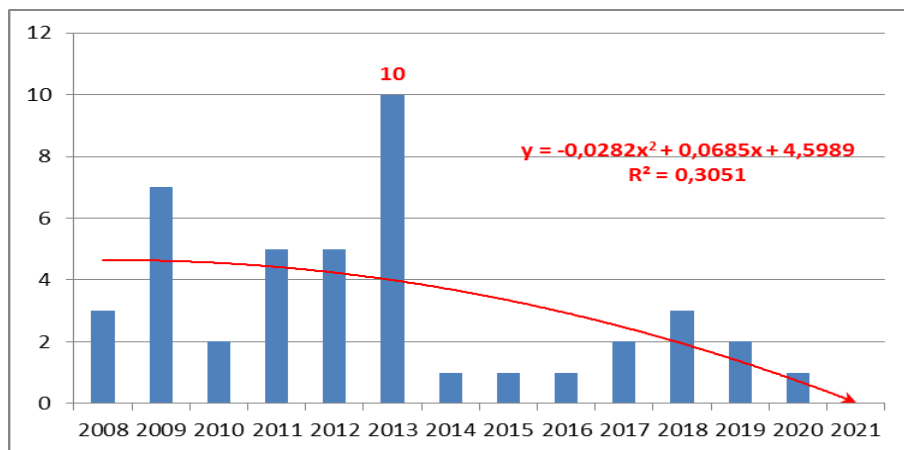
2014	1,24	90	0,38	1	<0,05
2015	1,18	85	0,38	1	>0,05
2016	1,13	81	0,39	1	>0,05
2017	1,18	84	0,81	2	>0,05
2018	1,18	83	1,23	3	>0,05
2019	1,26	88	0,81	2	>0,05
2020	0,63	44	0,39	1	>0,05
2021	?	25	?	0	
Общо		1067		43	



Фиг.1. Заболяемост от ВХ С в Р България и обл. Плевен (2008-2021 г.)



Фиг. 2. Брой регистрирани случаи от ВХ С в Р България (2008-2021 г.)



Фиг. 3. Брой регистрирани случаи от ВХ С в област Плевен (2008-2021 г.)

### Глава III. Резултати от епидемиологични проучвания на случаи с лабораторно потвърден ВХС

Направено е ретроспективно проучване на популационна извадка, включваща 50 случаи на лабораторно потвърден ВХС.

Извадката е сформирана през периода 2017-2018 г. и включва пациенти, лекувани в различни клиники на УМБАЛ „Д-р Георги Странски“ – Плевен през същия период и донори на кръв в РЦТХ – Плевен с положителен резултат за anti-HCV.

Анализирани са демографски показатели на проучените случаи – възраст и пол. Разпределението по възраст и пол на проучените случаи, включени в извадката, е представено на **Таблица 3**, **Фиг. 4** и **Фиг. 5**. Достоверно по-голямо е присъствието на мъжете във възрастови групи 20-29 г. и 40-49 г. ( $p < 0,05$ ), а на жените – във възрастова група 70-79 г. ( $p < 0,025$ ).

Преобладаващото участие на мъжете в извадката като цяло и в по-младите възрастови групи е видно на **Фиг. 6**.

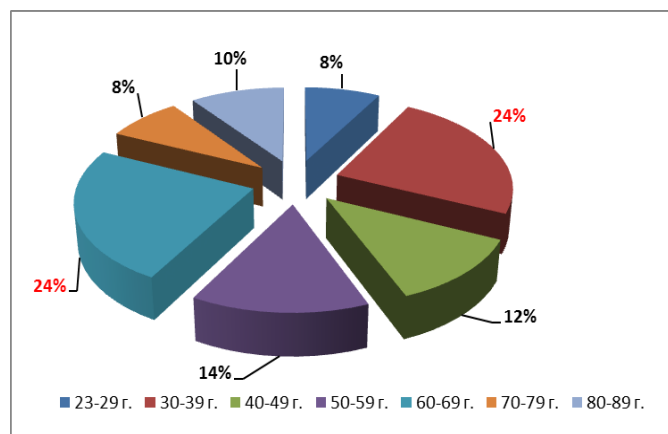
Разпределението по възраст на проучените мъже е представено на **Фиг. 7**, а на проучените жени – на **Фиг. 8**.

Преобладават случаите с градско местоживееене – 62,50 % (**Фиг. 9**).

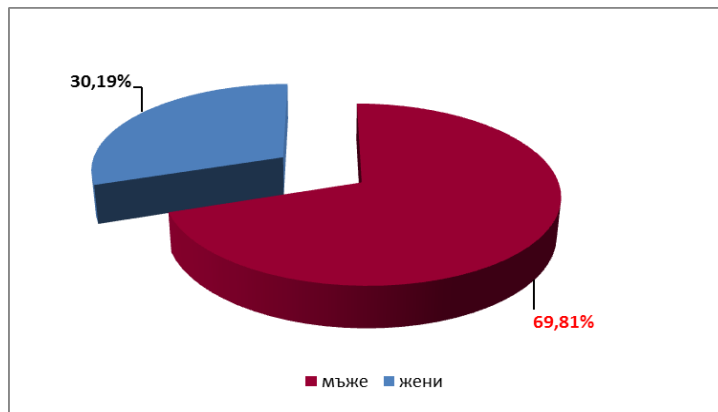
Относно разпределението на рисковите групи най-голям е относителният дял на случаите, претърпели оперативни интервенции (64,71 %), следван от случаите с извършено кръвопреливане (29,41 %) (**Фиг. 10**).

**Таблица 2. Разпределение по възраст и пол на случаи с лабораторно потвърден ВХС**

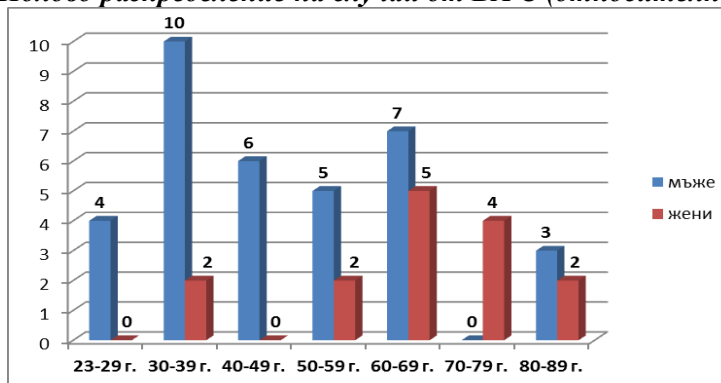
Критерии	Възрастова група	общо	мъже n	мъже %	жени n	жени %	p
Възраст	20-29 г.	4	4	11,43	-	-	<0,025
	30-39 г.	12	10	28,57	2	13,33	>0,05
	40-49 г.	6	6	17,14	-	-	<0,005
	50-59 г.	7	5	14,29	2	13,33	>0,05
	60-69 г.	12	7	20,00	5	33,33	>0,05
	70-79 г.	4	-	-	4	26,67	<0,025
	80-89 г.	5	3	8,57	2	33,33	>0,05
Всичко		50	35	100%	15	100%	<0,05



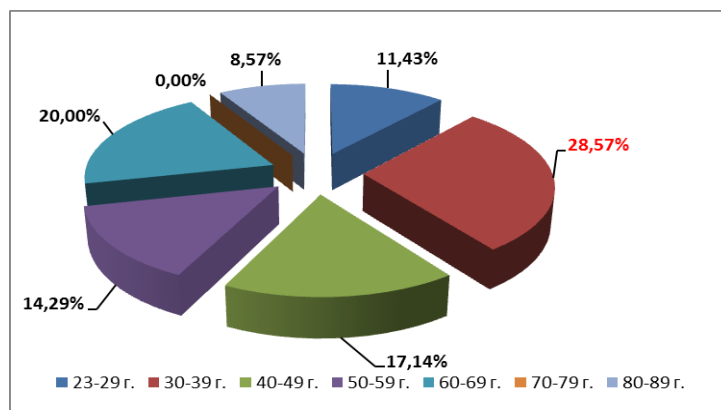
**Фиг. 4. Възрастово разпределение на случаи от ВХС (относителни дялове на възрастови групи)**



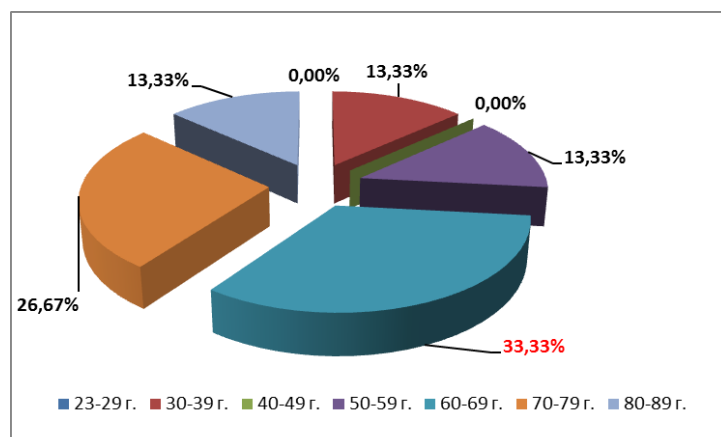
Фиг. 5. Полово разпределение на случаи от ВХ С (относителни дялове)



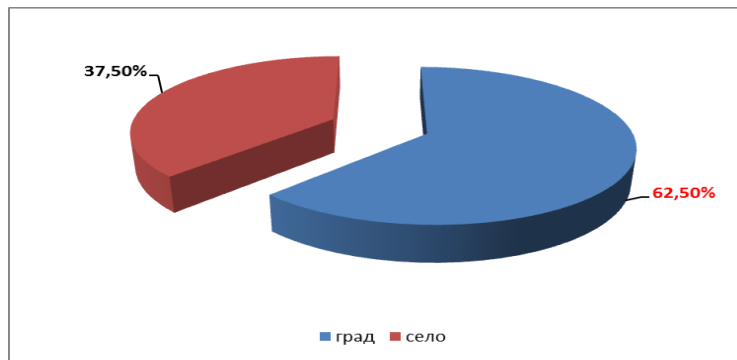
Фиг. 6. Разпределение по възраст и пол на случаи от ВХ С (брой случаи)



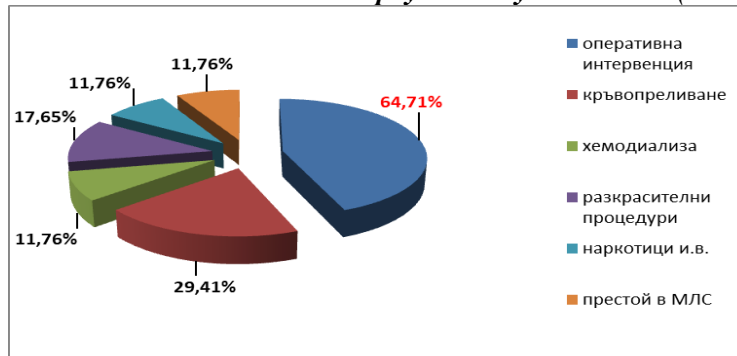
Фиг. 7. Разпределение по възраст на проучени мъже с ВХ С (относителни дялове)



Фиг. 8. Разпределение по възраст на проучени жени с ВХ С (относителни дялове)



**Фиг. 9.** Разпределение по местоживееене на проучени случаи с ВХ С (относителни дялове)



**Фиг. 10.** Разпределение по рискови групи на проучени случаи с ВХ С (относителни дялове)

#### Глава IV. Резултати от проучвания на хоспитализирани болни с водеща диагноза ВХ С или придружаващ такъв. Обсъждане на резултатите.

Направено е ретроспективно проучване на 38 хоспитализирани болни с водеща диагноза ВХ С или придружаващ такъв. Пациентите са лекувани в различни клиники на УМБАЛ „Д-р Георги Странски“ – Плевен през периода 2017-2018 г. Използвани са данни от „История на заболяване“, епикризи на хоспитализираните болни. Разпределението на проучените хоспитализирани болни по клинични звена е представено на **Фиг. 11**.

Анализирани са демографски показатели на проучените случаи – възраст, пол и местоживееене. Разпределението по възраст, пол и местоживееене на проучените случаи е представено съответно на **Фиг. 12**, **Фиг. 13** и **Фиг. 14**.

Общото разпределение по пол и възраст на проучените случаи е представено на **Таблица 3** и **Фиг. 15**. Преобладават случаите от мъжки пол (68,42 %), с предимно градско местоживееене (66,67 %) ( $p < 0,05$ ).

Най-голям е броят на хоспитализираните пациенти във възрастова група 60-69 г. – 12 (31,58 %), следват пациентите в група 40-49 г. – 6 (15,79 %). Сравнителното проучване на разпределението между двата пола показва, че достоверно по-голямо е присъствието на мъжете спрямо жените във възрастови групи 20-29 г. ( $p < 0,025$ ) и 40-49 г. ( $p < 0,005$ ), а на жените спрямо мъжете – във възрастова група 70-79 г. ( $p < 0,025$ ).

Самостоятелното разпределение на двата пола по възрастови групи е представено на **Фиг. 16** и **Фиг. 17**. И при двата пола най-голям брой болни е регистриран във възрастова група 60-69 г. ( $p > 0,05$ ).

Разпределението на проучените случаи по клинични звена е представено на **Таблица 4** и **Фиг. 11**. Най-голям е броят на хоспитализираните болни с водеща диагноза хепатит С или придружаващ такъв в Клиника по гастроентерология – 12 (31,58%), следват Клиника по инфекциозни болести – 9 пациенти (23,68 %), Клиника по хематология – 8 пациенти (21,05 %), Клиника по ревматология – 3 пациенти (7,89 %) и Клиника по нефрология – 2 пациенти (5,26 %). По-рядко са хоспитализирани болни с ВХ С в други клинични звена – съответно по 1 пациент в Клиника по колопроктология, Клиника по онкогинекология, Клиника по пластична и възстановителна хирургия и Клиника по кардиология (съответно по 2,63 %) ( $p < 0,05$ ).

**Таблица 3. Разпределение по възраст и пол на хоспитализирани болни с водеща диагноза ВХ С или придружаващ такъв**

Критерии	Възрастова група	общо	мъже n	мъже %	жени n	жени %	p
Възраст	20-29 г.	3	3	11,54	-	-	<0,025
	30-39 г.	4	3	11,54	1	8,33	>0,05
	40-49 г.	6	6	23,08	-	-	<0,005
	50-59 г.	5	4	15,38	1	8,33	>0,05
	60-69 г.	12	7	26,92	5	41,67	>0,05
	70-79 г.	4	1	3,85	3	25,00	<0,025
	80-89 г.	4	2	7,69	2	16,67	>0,05
Всичко		38	26	100%	12	100%	<0,05

От проучените 38 хоспитализирани пациенти остър ВХ С е установен при 8 (21,05 %), а при останалите 30 е налице хроничен хепатит С с различна давност (78,95 %) (p < 0,05).

Водещите диагнози са в непосредствена корелация с патологията на клиниките, в които са хоспитализирани пациентите. С най-голям относителен дял са заболявания на хепато-билиарната система, лекувани в Клиника по гастроентерология, а именно: с чернодробна цироза – 5 болни, с хроничен хепатит С – 3, с остра чернодробна недостатъчност – 2, с остър ВХ С и с механичен иктер (запушване на ductus choledochus) – съответно по 1 (общо 12 пациенти).

Пациентите, лекувани в Клиника по инфекциозни болести са 9, като 5 от тях са само с остър ВХ С. Четири от болните с остър хепатит С са с хронични бъбречни увреждания на хемодиализа, като една пациентка след няколко хоспитализации в Клиника по нефрология, по време на които е била с отрицателни тестове за anti-HCV, при следваща хоспитализация тестът е положителен и е преведена в Клиника по инфекциозни болести с диагноза остър ВХ С. Двама пациенти с остър ВХ С са с коинфекция на ВХ А, един с остър ВХ В и хроничен ВХ С и един с хроничен ВХ С. Относно разпределението на остър и хроничен ВХ С съотношението е 7 : 2 (p < 0,05).

Пациентите с ВХ С, лекувани в Клиника по хематология са 8, диагностично разпределени както следва: 6 болни са с хемофилия, 1 – с В-клетъчна левкемия и 1 с дребноклетъчен лимфом (общо 8 пациенти).

Пациентите, лекувани в Клиника по ревматология са 3 – 2 с диагноза „Други серопозитивни ревматоидни артрити“ и 1 с „Друга полиартроза“.

Пациентите, лекувани в Клиника по нефрология и хемодиализа са двама. Едната е пациентка с ХБН на хемодиализа от 2005 г. поради бъбречна недостатъчност след акушерогинекологичен инцидент и последвала двустранна, симетрична кортикална бъбречна некроза. От 2011 г. е трансферирана към перитонеална диализа, поради изчерпване на съдовия достъп за хемодиализа. През 2013 и 2016 г. развива диализно асоцииран перитонит с причинител Staphylococcus epidermidis; с придружаващо носителство на HBs Ag. Вторият е пациент, злоупотребяващ с хероин от 16 до 22-годишна възраст, след което е на терапия с Метадон. Апендектомиран през март 2017 г. Установен хроничен ВХ С, по повод на който е лекуван през май 2017 г. в Гастроентерологична клиника на УМБАЛ – Плевен, без данни за репликация. През ноември 2017 г. е лекуван за фасцит на дясната ръка. Тогава е с „гласък“ на ХБН до 540 мкмол/л креатинин.

Останалите четири пациенти са лекувани съответно в Клиника по онкогинекология (оперирана по повод Myoma uteri), в Клиника по колопроктология (по повод кървящи хемороиди), в Клиника по пластично-възстановителна хирургия (злокачествен меланом), Кардиологична клиника (с ритъмно проводно нарушение, пристъп от предсърдно мъждене).

Данните относно минали и придружаващи заболявания са изключително разнообразни (Таблица 5). От епидемиологична гледна точка относно вероятна причина за възникването на ВХ С е важно да се систематизират извършваните дейности в миналото, които са с риск от възникване на хепатита. Анализът установява, че при 18 болни (47,37 %) са извършвани оперативни и инвазивни интервенции по различни поводи. Шест от болните (15,79 %) са с хемофилия, налагаща инфузии на коагулационен фактор VIII. Пет от болните (13,16 %) са с хронична бъбречна недостатъчност с различна генеза, като при една пациентка е установен остър ВХ С, по повод на който е лекувана в Клиника по инфекциозни болести. Двама болни, лекувани в Клиника по



хематология, са с малигнени хематологични заболявания, налагащи трансфузии на кръвни съставки (5,26 %).

Други рискови фактори са употребата на венозни наркотици, регистрирани при двама болни (2,56 %). Единият от тях е въдворен в МЛС – Белене. Със същия статут на лице, въдворено в МЛС е още един пациент, при който е установен остър ВХ С, но поводът за хоспитализация в Клиника по инфекциозни болести са драстично нарушените чернодробни функции поради едновременно наличие на остър ВХ В, т.е. налице е ко-инфекция от остър ВХ В и ВХ С. Към рисковата група за вероятен риск от възникване на ВХ С чрез кръвен механизъм на предаване можем да посочим факта, че един от пациентите една година преди регистрирането на ВХ С си е направил татуировки (2,63 %). Четирима от болните са с повече от един възможен механизъм на предаване на инфекцията (10,53 %). Обобщеният анализ на принадлежността към рискови групи показва най-голям относителен дял на случаите, претърпяли оперативни интервенции (26,32 %), следват такива с кръвопреливане (23,68 %), лица на хемодиализа (15,79 %), пациенти претърпяли инвазивни кардиопроедури (7,89 %). Еднакви са относителните дялове на лица с разкрасителни процедури, употребяващи венозно наркотици и такива от места за лишени от свобода (съответно по 5,26 %) (**Фиг. 18**).

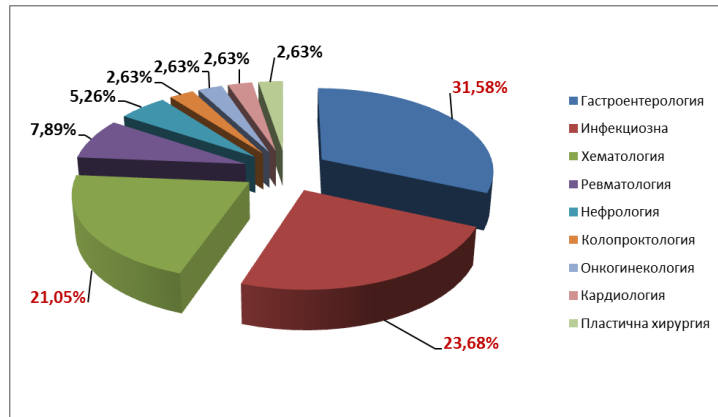
Относно приблизителното време на регистрирането на ВХ С само при 13 болни има конкретни данни (34,21 %), като двама от тях са открити при кръводаряване и един при профилактичен преглед. Това прави невъзможно да се определи началото на заболяването. Давността е известна само при острите случаи на ВХ С, седем от които са лекувани в Клиника по инфекциозни болести (двама от тях са ко-инфекция с остър ВХ А) и един в Клиника по гастроентерология. Това потвърждава общоизвестното тихо протичане на острия ВХ С и преминаването му в хроничен, без да е водеща причина за търсене на медицинска помощ. Този факт се потвърждава от анализа на клинично-лабораторните данни, получени при проучените от нас хоспитализирани пациенти с ВХ С и представени на **Таблица 6**.

Клинични симптоми и синдроми, характерни за вирусен хепатит (независимо от етиологията му) са налице както следва: отпадналост (в 39,47 % от болните), намален апетит (28,95 %), хепатомегалия (28,95 %), тъмна урина (23,68 %) и тежест в корема (21,05 %) ( $p > 0,05$ ). От посочените симптоми видима корелация с тежестта на протичане имат тежестта в корема (OR 23,33;  $\phi = 0,58717737$  – значителна корелация по 5-степенната скала на Пирсон), отпадналостта (OR 5,25;  $\phi = 0,31065583$  – умерена корелация по посочената скала) и намаленият апетит (OR 2,15625;  $\phi = 0,14574499$  – слаба корелация). Останалата симптоматика, суспектна за вирусен хепатит, е доста по-рядко съобщавана. Същевременно е налице симптоматика, характерна за коморбидитета на пациентите, което допълнително затруднява интерпретацията на данните (**Фиг. 19**).

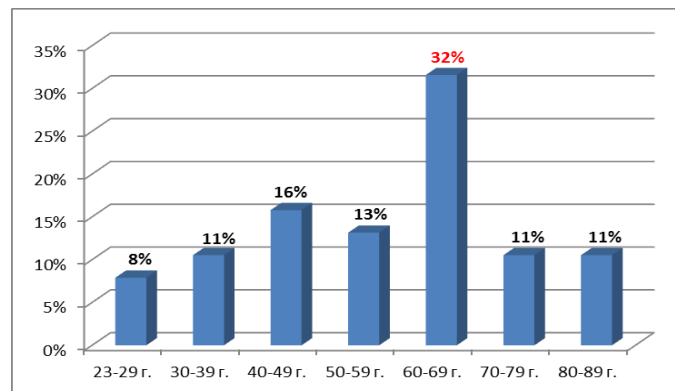
Анализът на чернодробните биохимични показатели (**Таблица 6**) показва леко до умерено повишени нива на серумен билирубин с превалиране на директната му фракция, умерено повишени трансаминази с превалиране на ALAT. Това показва, че по време на съответния болничен престой, провокиран от водещото за момента друго заболяване, е имало известна чернодробна цитолиза. Пациентите с коинфекция ВХ А или ВХ В са с по-висока трансаминазна активност, дължаща се на други биопатогени, а не на HCV. Точният анализ, както и детайлното сравняване на острите и хроничните случаи ВХ С, са силно затруднени поради разнообразния коморбидитет, който също оказва замъгляващо влияние върху чернодробните (и не само) биохимични процеси.

Относно тежестта на протичане при хоспитализираните болни с ВХ С анализът показва: субклинична форма на хепатит С (липса на симптоматика и лабораторни отклонения, характерни за хепатит) е налице в 52,63 % от случаите, лека форма – в 7,89 %, средно тежка в 21,05 % и тежка – в 18,42 % от случаите (това са болни с чернодробна цироза) ( $p < 0,05$ ) (**Фиг. 20**).

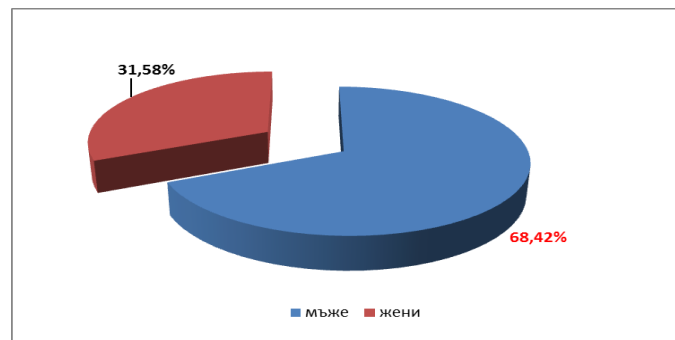
Обобщавайки резултатите от анализа на клинично-лабораторните показатели отчитаме преобладаващо субклинично протичане на ВХ С, което корелира и с други проучвания, извършвани в клиники на УМБАЛ „Д-р Георги Странски“ – Плевен от 90-те години до настоящия период.



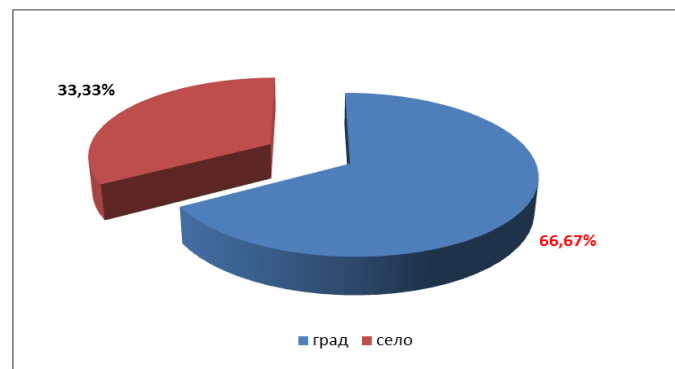
Фиг. 11. Разпределение по клинични звена на хоспитализирани болни с ВХ С (относителни дялове)



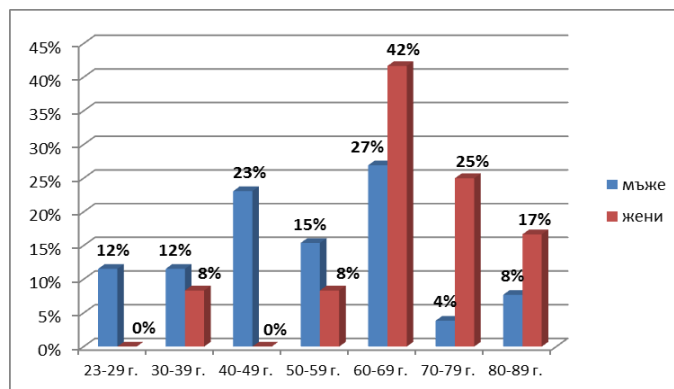
Фиг. 12. Разпределение по възраст на хоспитализирани болни с водеща диагноза ВХ С или придружаващ такъв (относителни дялове)



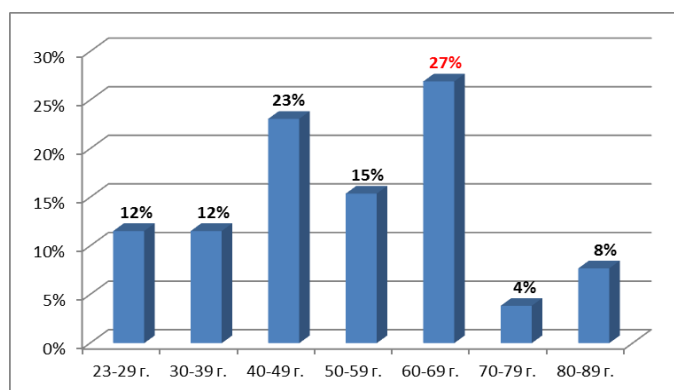
Фиг. 13. Разпределение по пол на хоспитализирани болни с водеща диагноза ВХ С или придружаващ такъв (относителни дялове)



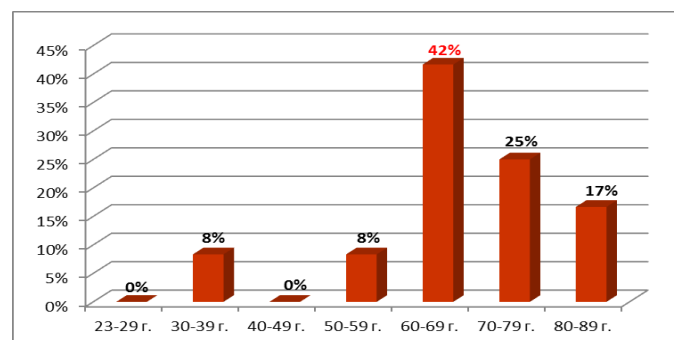
Фиг. 14. Разпределение по местоживее на хоспитализирани болни с водеща диагноза ВХ С или придружаващ такъв (относителни дялове)



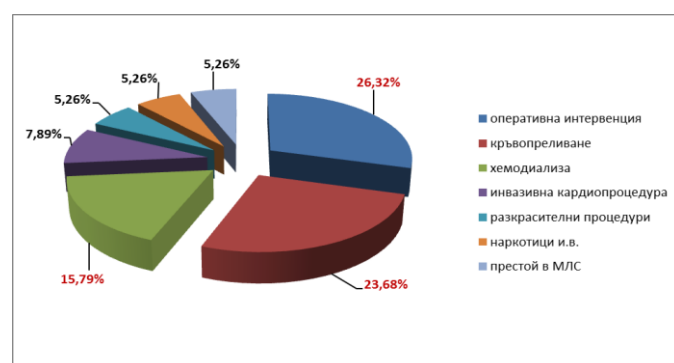
**Фиг. 15.** Разпределение по пол и възраст на хоспитализирани болни с водеща диагноза ВХ С или придружаващ такъв (относителни дялове)



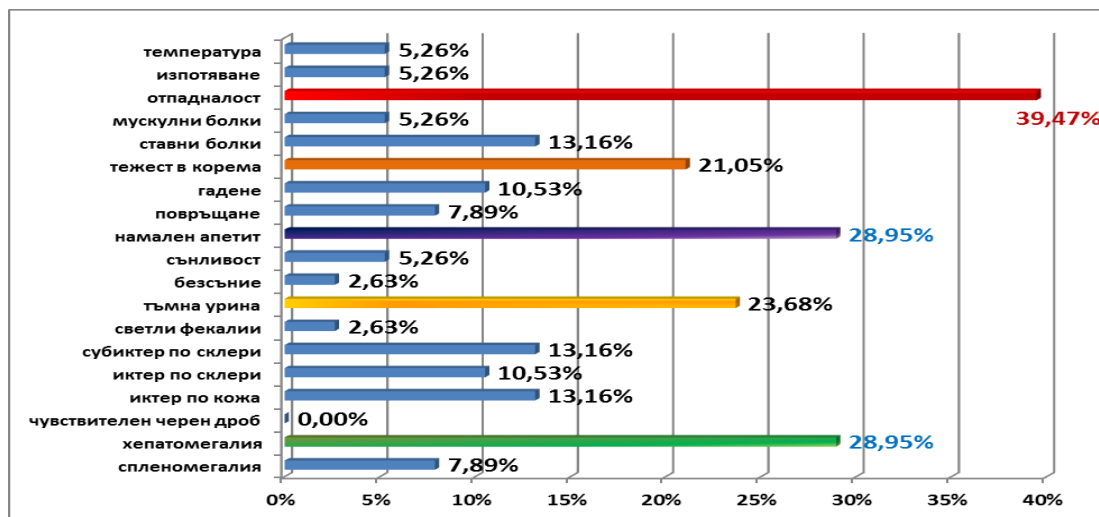
**Фиг. 16.** Разпределение по възраст на хоспитализирани мъже с водеща диагноза ВХ С или придружаващ такъв (относителни дялове)



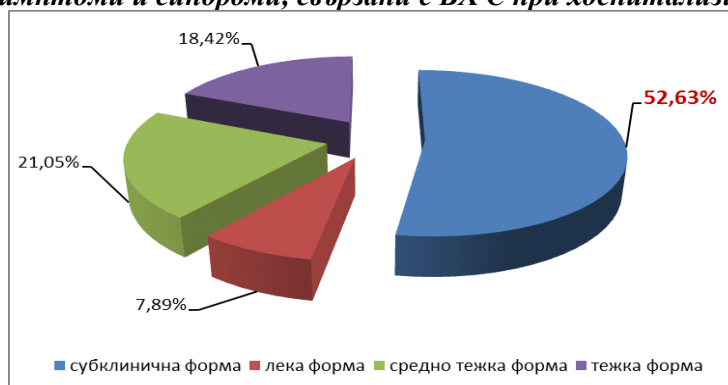
**Фиг. 17.** Разпределение по възраст на хоспитализирани жени с водеща диагноза ВХ С или придружаващ такъв (относителни дялове)



**Фиг. 18.** Рискови процедури при хоспитализираните болни с ВХ С



Фиг. 19. Клинични симптоми и синдроми, свързани с ВХС при хоспитализираните болни с ВХС



Фиг. 20. Разпределение по тежест на хоспитализирани болни с ВХС

Таблица 4. Водещи диагнози на хоспитализираните болни с ВХС и разпределението им по клиники

Клиника	Водеща диагноза	Брой болни	%
Гастроентерология	Чернодробна цироза	5	31,58
	Хроничен хепатит С	3	
	Остра чернодробна недостатъчност	2	
	Остър ВХС	1	
	Механичен иктер	1	
Инфекциозни болести	Остър ВХС	5	23,68
	Остър ВХС с коинфекция ВХА	2	
	Остър ВХВ и придр. хроничен ВХС	1	
	Хроничен ВХС	1	
Хематология	Хемофилия	6	21,05
	В-клетъчна левкемия	1	
	Дребноклетъчен лимфом	1	
Ревматология	Серопозитивен артрит	2	7,89
	Полиартроза	1	
Нефрология	ХБН. ХХД	2	5,26
Колопроктология	Кървящи хемороиди	1	2,63
Онкогинекология	Муома uteri	1	2,63
Пластична хирургия	Злокачествен меланом	1	2,63
Кардиология	РПН. Пристъп от предсърдно мъждене	1	2,63
Общо		38	100%

Таблица 5. Минали и придружаващи заболявания на хоспитализирани болни с ВХС и разпределението им по клиники

№	Клиника, диагноза	Минали и придружаващи заболявания
10	Гастроентерология Чернодр. цироза. Портална хипертензия. Хиперспленен синдром. Варици на хранопровода. Ерозивен гастрит.	Вторична анемия. Хроничен ВХС – през 2016 г. анти HCV (+) серологичен тест, без по-натъшни консултации.
21	Гастроентерология Чернодр. цироза клас „Чайлд“ 2 – установена м. 02.2009 г. Портална хипертензия	<b>Минали заболявания:</b> Операция – десностранна херниотомия – м.12.2005 г. Операция на слюнчените жлези – м.10.2010 г. Операция на десния тестис по повод туморна формация (преди ~ 13 г.); ПТУР – 2006 и 2009 год. Фиброза на черния дроб (2004 г.). Хроничен ВХС (установен 2009 г.)

	Хиперспленен синдром	<b>Придр. заболявания:</b> АХ, Белодр. емфизем; Вторична анемия; Каскаден стомах; Хроничен гастрит; Спастичен колит; Автоимунен тиреоидит – еутиреоидна фаза (от 2003 год.); Паркинсонова болест, треморно – ригидна форма (с давност от ~ 15 год.); Есенциален тремор; Хиподепресия; Дискова херния
31	<b>Гастроентерология</b> Чернодр. цироза – установена през 06.2018 г. при пролежаване в СБАЛ“Сърце и мозък“ за поставяне на пейс мейкър.	1991 – остър микарден инфаркт, 2001 г. – байпас, 2013 и 2018 г. – пейсмейкър
34	<b>Гастроентерология</b> Чернодр. цироза Чайлд В. Портална хипертония Асцит	Белодробен проблем, за който се наблюдава от пулмолог (липсва документация). Преди 20 години опериран по повод кървяща дуоденална язва.
35	<b>Гастроентерология</b> Чернодр. цироза Чайлд В от 2008 г. Портална хипертония. Хиперспленен синдром. Състояние след епистаксис.	Хроничен атрофичен гастрит – 2008 г. АХ - от 7 г. Артрозна болест – 2006 г. Апендектомия в ученическа възраст.
36	<b>Гастроентерология</b> Хроничен вирусен хепатит С – оплаквания от около 3 месеца	Операция по повод ингвинална херния в детска възраст
37	<b>Гастроентерология</b> Хроничен вирусен хепатит С	Опериран по повод ингвинална херния, опериран ортопедично. анти HCV (+) – при кръводаряване
38	<b>Гастроентерология</b> Хроничен ВХ С	Двустранна гонартроза В детска възраст апендектомия. анти HCV (+) – при кръводаряване през 2017 г.
12	<b>Гастроентерология</b> ОЧН	ХБ, исхемичен инсульт в БДСМА (м.11.2017 г.), СН, РПН: пароксизмално ПМ, ЛПФБ и ДББ
18	<b>Гастроентерология</b> ОЧН	АХ. ХАНК. Отречен остър вирусен хепатит. След консулт с гастроентеролог насочен към клиниката. При проведените серологични изследвания установено наличие на антитела срещу ВХ С, като на този етап не може да се потвърди дали се касае за остър или хроничен хепатит.
3	<b>Гастроентерология</b> остър С хепатит	Стеноза на 2-те илячни артерии.Тромбоза на феморалните артерии. С-ние след емболия на лява илячна артерия. Захарен диабет
19	<b>Гастроентерология</b> Запушване на д.холодохус	АХ. Подагра. МСБ. Последници от травми на горен крайник.
1	<b>Инфекциозна к-ка</b> Остър ВХ С	ХБН 3 ст. <b>Хемодиализа</b> . Хипертонична нефропатия. Хипертонична болест
11	<b>Инфекциозна к-ка</b> Остър ВХ С	Гломерулонефритис хроника. ХБН III ст. Алопластика на лява тазобедрена става. <b>Хемодиализа</b>
27	<b>Инфекциозна к-ка</b> Остър ВХ С	ХБН 4 ст. <b>Хемодиализа</b> – от 3 г. Автозомно доминантна бъбречна поликистоза със симптоматична АХ 3; Мозъчен инсульт 2007 г.
28	<b>Инфекциозна к-ка</b> Остър ВХ С	ПФ. Хидронефроза. ХБН. АХ. Хистеректомия по повод Са на шийката на матката. Мозъченинсулт през 2017 г.
23	<b>Инфекциозна к-ка</b> Бакт. чревна инф-я. Остър ВХ С	ХБН – хипертонична нефропатия ( <b>хемодиализа</b> 3 пъти седмично); ХСН; АХ
9	<b>Инфекциозна к-ка</b> Остър ВХ С	Остър хепатит тип "А" Контактен на болен с вирусен хепатит. Няма кръвни манипулации последните 6 месеца. Пуши " тревa". Системно употребява алкохол.
17	<b>Инфекциозна к-ка</b> ОВХ А	остър ВХ С – 1месец по-късно (+) резултат за ВХ С Не съобщава за контакт с болни от ОЗЗ, както и за стоматологични и кръвни операции.
5	<b>Инфекциозна к-ка</b> Остър В хепатит	хроничен С (от 2010 г. при профилактичен преглед). Въдворен в МЛС – Белене
7	<b>Инфекциозна к-ка</b> Вирусна чревна инфекция	Хроничен ВХ С. Въдворен в МЛС – Белене От 4 месеца приема хероин венозно, преди 1 година си е направил татуировки.
6	<b>Хематология</b> Хемофилия	Хроничен хепатит С. Детска церебрална парализа.
8	<b>Хематология</b> Хемофилия	От 2000 г. хроничен ВХ С
13	<b>Хематология</b> Хемофилия	Хроничен ВХ С – установен 2004 г.
24	<b>Хематология</b> Хемофилия	Двукратно мелена
30	<b>Хематология</b> Хемофилия	През 1985 г. след коремна травма е проведена лапаротомия със “сутура на слезката”. Хроничен ВХ С.
33	<b>Хематология</b> Хемофилия	HCV +. Хипертонична болест. Нефросклероза на десен бъбрек.
16	<b>Хематология</b> Хронична В клетъчна лимфоцитна левкемия Първа хоспитализация 05.2016 г. след профилактичен преглед и изследване на ПМК.	Без придр. заболявания
22	<b>Хематология</b> Дребноклетъчен лимфом	ХЗСН II-III ф. клас. Надкамерна екстрасистолия. Артериална хипертония III ст. Язва на стомаха. Субклиничен хипертиреоидизъм. Екзофталам – доброкачествен тумор на ляво око-2009 г. Холелитиаза и нефролитиаза.
15	<b>Ревматология</b> Серопозитивен ревматоидни артрит	Алергичен ринит. Триадна астма. Язва на дуоденума.

25	<b>Ревматология</b> Серопозитивен ревматоиден артрит	Варикозни вени на долните крайници. Хроничен ВХ С. ХСБ.
2	<b>Ревматология</b> Полиартрози	ХЗСН III ФК. ИБС. ИКМП. Ритъмна форма. Инплантиран траен ЕКС по повод синкопи. Захарен диабет II тип. КДС- ДПНП. Безвкусен диабет. Три мозъчни инсулта
14	<b>Нефрология</b> ХБН, Перитонеална ХД, носителство на HBs Ag	От 2005 г. – ХД От 2011 г. – перитонеална диализа Диализно асоцииран перитонит – през 2013 и 2016 г. с причинител Staphylococcus epidermidis.
32	<b>Нефрология</b> Хр. гломерулонефрит. АХ. ХБН I ст.	Злоупотреба с хероин от 16 до 22-годишна възраст, след което е на терапия с Метадон. Апендектомия март 2017 г. Хроничен ВХ С. Лекуван през май 2017 г. в ГЕК на УМБАЛ – Плевен, без данни за репликация. През ноември 2017 г. е лекуван за фасциит на дясната ръка. Тогава е с „гласък“ на ХБН до 540 мкмол/л креатинин.
26	<b>Колопроктология</b> кървящи хемороиди	ВХ С с неизвестна давност
4	<b>Онкогинекология</b> Миома утери	Nodulus gl. thyroideae; Polyposis ventriculi; Nephrolithiasis renis sin.; Боледувала от Хепатит"С. Litotripsia renis sinistra- 2006 год.
29	<b>Пластично-възстановителна хирургия</b> Малигнен меланом	От м.април 2018 г. с кървене от черна формация на гр. стена ИБС, I69.8 МСБ, П11.9 ХСБ
20	<b>Кардиология</b> РПН – ППМ. ЛК диастолна дисфункция	АХ Захарен диабет тип 2 апендектомия 2013 г.

**Таблица 6. Клинико-лабораторни показатели на хоспитализирани болни с водеща диагноза ВХ С или придружаващ такъв**

	min	max	average	sd	median	mode	C1 95%
<b>Er</b>	2,26	6,12	4,227	0,837	4,26	4,71	3,946-4,51
<b>Hg</b>	46	171	124,42	25,369	125	137	115,871-132,962
<b>MCV</b>	66	109	87,169	7,92	87,8	88	84,5-89,84
<b>Ht</b>	0,25	0,52	0,376	0,067	0,38	0,38	0,353-0,398
<b>WBC</b>	2,7	34,5	7,35	5,162	6,3	6	5,611-9,089
<b>Gran</b>	13,3	85	64,885	13,69	64,95	69,8	60,139-69,631
<b>Ly</b>	12	82,3	27,788	12,79	28,1	15	23,354-32,223
<b>Mo</b>	3	29,3	7,768	4,47	6,85	5	6,217-9,319
<b>PLT</b>	47	434	186,63	86,42	185	89	157,106-216,151
<b>T bil</b>	4,8	440	53,267	37,379	12,95	NA	18,477-88,057
<b>D bil</b>	2,2	392	44,592	30,445	7,3	7,3	9,587-79,598
<b>AST</b>	7,2	2077	231,36	155,825	51	NA	79,909-382,805
<b>ALA T</b>	9	2757	294,479	196,258	45	20	96,372-492,586
<b>GGT</b>	11,8	1415	198,854	108,804	93	26	90,214-307,495
<b>AP</b>	35	384	125,24	85,735	100	64	94,614-155,874
<b>LDH</b>	233	1020	394,308	195,561	337	NA	277,152-511,464
<b>SHE</b>	3360	8704	6007,95	2223,393	5983,9	NA	2932,998-9082,902
<b>TP</b>	54	87,5	71,115	6,7889	70,05	77	68,584-73,646
<b>Alb</b>	27,9	51,4	41,797	5,93	42,,55	45,6	39,545-44,049
<b>f-gen</b>	1,47	5,76	2,889	1,019	2,865	2,3	2,509-3,269
<b>PI</b>	20,4	120	82,28	19,97	84,5	92	74,836-89,723
<b>Chol</b>	2,8	5,8	4,677	0,935	4,765	NA	3,915-5,44
<b>3-glyc</b>	0,98	2,61	1,565	0,553	1,575	1,7	1,114-2,016
<b>Glucose</b>	3,53	10,7	5,803	1,828	5,2	4,9	5,179-6,428
<b>BUN</b>	2,3	17,3	6,599	4,837	4,22	17,3	4,97-8,229
<b>creat</b>	28	1075	138,514	197,548	74	56	71,03-205,999
<b>Cl<sup>-</sup></b>	95	110	102,636	4,365	102	105	99,739-105,533
<b>Na<sup>+</sup></b>	122	143	138,471	3,81	139	142	136,521-140,42
<b>K<sup>+</sup></b>	3,6	5,9	4,647	0,609	4,6	5	4,355-4,94
<b>UA</b>	196	761	386,385	168,924	340	NA	285,186-487,583
<b>CRP</b>	0,15	37,7	11,701	12,304	9,1	NA	3,032-20,37

**Глава V. Резултати от проучвания относно разпространение и молекулярно-генетична характеристика на HCV сред донори на кръв. Обсъждане на резултатите.**

Представят се обобщени резултати от шестгодишен скрининг за антитела към HCV на два центъра по трансфузионна хематология – единият с регионално, а другият с национално набиране на контингенти за кръводаряване. Прилагайки принципите на молекулярната епидемиология, в проучването е включена и задача определяне на генотипа (до ниво субгенотип) и вирусния товар.

Информацията е набавена от отчетните документи на РЦТХ-Плевен и ЦТХ-ВМА, София.

Събрана е информация за: годишен брой донори (общ брой, брой мъже и жени, брой донори по възрастови групи); годишен брой донори, при които е потвърдено наличието на антитела срещу HCV (общ брой донори с идентифицирани антитела, брой мъже и жени с потвърдени антитела, брой донори по възрастови групи с идентифицирани антитела).

Сведенията за откритите носители на HCV при донорство в РЦТХ-Плевен и характеристиката по пол и възраст са представени на **Таблица 7** и **Таблица 8**.

Общо за проучвания период са установени 22 лица с наличие на HCV. На фона на нарастване броя на кръводаряванията по години, най-висок брой лица с установени положителни тестове за наличие на HCV е регистриран през 2014 г. – седем (31,82 %) ( $p < 0,05$ ). Единадесет (50%) са лица във възрастова група 25-34 г. ( $p < 0,05$ ). Категорично преобладава мъжкият пол – 21 положителни за HCV (95,45 %) ( $p < 0,0005$ ).

**Таблица 7. Разпределение на донорите с установени антитела към HCV в РЦТХ-Плевен по години, пол и възраст (2013-2018 г.)**

Година	Пол	Възраст	Общ брой anti-HCV(+) през годината	Общ брой кръводарявания през годината
2013	м	29	2	7305
	м	34		
2014	м	20	7	7518
	м	29		
	м	31		
	м	31		
	м	32		
	м	43		
2015	м	32	2	7938
	м	33		
2016	м	26	5	8031
	м	30		
	м	49		
	м	50		
	м	61		
2017	м	29	2	8454
	м	58		
2018	ж	18	4	9100
	м	32		
	м	47		
	м	71		
Всичко 2013-2018	Мъже 21 Жени 1		22	48346

**Таблица 8. Възрастова характеристика на донорите с установени антитела към HCV в РЦТХ-Плевен (2013-2018 г.)**

Критерии	Възрастова група	2013	2014	2015	2016	2017	2018	Общо
Възраст	18-19 г.						1	1
	20-24 г.		1					1
	25-34 г.	2	4	2	1	1	1	11
	35-44 г.		2					2
	45-54 г.				3		1	4
	55-64 г.				1	1	1	3
	≥ 65 г.							-
Пол	Мъже	2	7	2	5	2	3	21
	Жени						1	1
Всичко		2	7	2	5	2	4	22

Сведения за откритите носители на HCV при донорство в ЦТХ-ВМА и възрастовата им характеристика са представени на **Таблица 9** и **Таблица 10**.

**Таблица 9. Разпределение на донорите с anti-HCV в ЦТХ-ВМА по години, пол и възраст (2013-2018 г.)**

Година	Пол	Възраст	Общ брой antiHCV(+) през годината	Общ брой кръводарявания през годината
2013	м	18	19	6226
	ж	19		
	ж	21		
	м	20		
	м	22		
	м	22		
	м	23		
	м	24		
	ж	24		
	м	25		
	м	25		
	м	27		
	м	30		
	м	30		
м	32			
м	34			
м	34			
м	34			
м	40			
2014	ж	18	16	5561
	ж	18		
	ж	19		
	ж	20		
	ж	20		
	м	21		
	м	21		
	ж	25		
	м	27		
	м	29		
	м	31		
	м	33		
	м	34		
	м	34		
м	41			
м	43			
2015	ж	18	19	6092
	ж	21		
	м	21		
	м	23		
	м	23		
	м	25		
	ж	26		
	ж	26		
	м	26		
	м	26		
	м	27		
	м	30		
	м	32		
	м	34		
м	34			
м	40			
м	41			
м	41			
м	44			
2016	ж	18	17	5741
	м	19		
	м	19		
	м	21		
	м	21		
	ж	23		
	м	23		
	м	23		
	м	24		
	м	24		
	м	24		
	м	28		
	м	29		
	м	31		
м	34			
м	40			
м	42			
2017	ж	23	6	4960
	м	24		
	ж	26		
	м	26		
	м	34		
м	47			
2018	м	19	10	5155
	ж	23		
	м	24		
	ж	26		
	ж	28		
	м	31		
	м	34		
	м	41		
м	43			
м	49			
Всичко 2013-2018	Мъже 69 Жени 18		87	33725



**Таблица 10. Възрастова характеристика на донорите с установени антитела към HCV в ЦТХ на ВМА (2013-2018 г.)**

Критерии	Възрастова група	2013	2014	2015	2016	2017	2018
Възраст	18-19 г.	2	3	1	3	-	1
	20-24 г.	7	4	4	8	2	2
	25-34 г.	9	7	10	4	2	4
	35-44 г.	1	2	4	2	1	1
	45-54 г.	-	-	-	-	1	1
	≥ 65 г.						
Пол	м	16	12	15	15	4	7
	ж	3	4	4	2	2	3
Всичко		19	16	19	17	6	10

На 4 кръвни проби с налични антитела срещу HCV, предоставени от РЦТХ Плевен, във Вирусологична лаборатория на ВМА е направен молекулярно-генетичен анализ на вируса. При всичките е идентифициран субгенотип 1b. Този вариант на причинителя според национално проучване на П. Теохаров се среща при 54 % от пациентите с посттрансфузионен хепатит и при 86 % от кръвните донори. Два броя проби са с надпрагова положителна концентрация на HCV, на които е определен вирусния товар. Установени са стойности 48 358 и 486 860 вирусни копия в ml. Другите две проби са под линията за положителна концентрация на HCV и с невъзможност да бъде определен вирусния товар.

#### **Глава VI. Резултати от проучвания относно молекулярно-генетични индикатори като част от епидемиологично проучване на пациенти с ВХС**

Изследвани са общо 14 кръвни проби от лица с предварително доказан антитяло-отговор срещу VHC по ELISA.

Определянето на вирусния товар и генотипирането се проведе по метода Real Time PCR. Предвид срещаните се и преобладаващи генотипове и субгенотипове в страната ни и в Европа, установени от наши и чуждестранни изследователи, е избран кит за детекция на 1a, 1b, 2, 3, 4, 5a и 6 генотипове/субгенотипове на HCV. Методиката включва следните стъпки: а) Екстракция на РНК от серума. б) Получаване на ДНК (copy DNA), комплементарна на екстрахираната РНК чрез обратна транскрипция. в) Real Time PCR по стандартизиран протокол с флуоресцентни бои HEX и FAM. Отчитането на резултатите е извършвано по флуоресцентен сигнал като RFU (relative fluorescence units, относителна флуоресцентна единица). Крайните стойности на вирусния товар, след съпоставяне със RFU на положителните стандартни контроли, са определяни в IU (международни единици). Окончателният резултат за вирусен товар е представен като брой копия вирусна РНК в ml кръв, след преизчисляване по формула на търговския кит. За целта е използван коефициент 3,2; т.е., всяка IU е равна на 3,2 копия РНК.

Епидемиологичните и клиничните данни са събрани ретроспективно от болничната документация. Заедно с данните за установеното количество на вируса в кръвта, те са интерпретирани в контекста на епидемиологичната анамнеза на отделните пациенти и риска за инфектиране на нови индивиди.

Последното поколение изследователски методи чрез съответното оборудване и апаратура откриват циркулиращи вируси при долна граница 5 копия в 1 ml кръв, с което се постига чувствителност над 98 %. Използваните в настоящото проучване търговски диагностични китове за рутинна употреба засичат вируси при долна граница около 50 копия в 1 ml.

При изследване на 8 проби в етапа маркиране на амплификацията с флуоресцентна боя FAM, стойностите на вирусната концентрация са под възприетата базова линия за откриване на вирусен товар. Затова са отчетени като отрицателни и това изключва следващата методична стъпка – точно количествено определяне. Данните за групата проби са представени на **Таблица 11**.

**Таблица 11. Проби с неоткриваем вирусен товар**

№ на проба	Пол	Възраст (години)	Основни клинични и епидемиологични данни
1	Мъж	70	Носител на HCV Зъболекарски процедури (2009) Татуировки (1967)
5	Жена	50	HCV Няма епидемиологични данни
6	Жена	66	Хроничен ВХ С (1998) Кръвопреливане (1970)
7	Мъж	41	Хроничен ВХ С Хемофилия
8	Жена	69	Носител на HCV Хемодиализа
9	Мъж	29	Носител на HCV Активна туберкулоза Венозни наркотици
10	Жена	46	Хроничен ВХ С (2000) Антивирусно лечение 2004–2005
11	Мъж	32	Хроничен ВХ С (2000) Хемофилия (1986)

Останалите 6 кръвни проби са със стойности над нивото базов праг за откриване на вирусна РНК. Те са отчетени като положителни със следните концентрации: проба № 2 – 7.210 IU/µl HCV, отговаряща на 1 849 вирусни копия в 1 ml; проба № 3 –  $1.235 \times 10^2$  IU/µl, (31 667 копия/мл); проба № 4 – концентрация  $5.2612 \times 10$  IU/µl, (14 390 копия/мл); № 12 – 8 433 IU в µl (26 986 копия/мл), № 13 – 4 867 IU в µl (15 574 копия/мл); № 14 – 12 413 IU в µl (39 721 копия/мл). Данните по този критерий са представени на **Таблица 12**.

**Таблица 12. Проби с откриваем вирусен товар**

№ на проба	Пол	Възраст (години)	Основни клинични и епидемиологични данни	Вирусен товар (copies/ml)
2	Мъж	47	Остър ВХ С Чернодробна цироза	1849 ( $1.85 \times 10^3$ )
3	Жена	57	Остър ВХ С (2017) Оперативна интервенция 3 месеца по-рано	31 667 ( $31.7 \times 10^3$ )
4	Жена	60	Остър ВХ С (2017) Хемодиализа	14 390 ( $14.4 \times 10^3$ )
12	Мъж	36	Хепатит С (2010) Решут Две татуировки Наркотици i.v. Serving a sentence	26 986 $27 \times 10^3$ )
13	Мъж	29	Остър ВХ С Няма епидемиологични данни	15 574 $15.6 \times 10^3$ )
14	Мъж	23	Остър ВХ С Drug addict Няколко татуировки Serving a sentence	39 721 $39.7 \times 10^3$ )

При всичките 14 изследвани пациента в тези проучвания е установен генотип 1b на HCV.

Нивото на вирусен товар е важно условие за инфектиране при осъществен рисков контакт, но значението му не трябва да се интерпретира еднозначно. Основният постулат на съвременната епидемиология за био-социалната същност на епидемичния процес, пренесен в противоепидемичната практика, изисква комплексно отчитане на всички условия, свързани с инцидента за заразяване. В този смисъл, инфекциозният потенциал при ВХ С се влияе и от честотата на рисковите експозиции. Многократно повтарящите се експозиции с материи съдържащи HCV (кръв, серум, лимфа) дори при нисък вирусен товар, обясняват високата честотата на разпространение на ВХ С сред инжекционно употребяващите наркотици. Данните убедително доказват, че тази рисковата група заема основен дял в глобалния резервоар на инфекцията.

Принципно е прието, че високият вирусен товар е показател за активна инфекция. Епидемиологичният потенциал нараства при съчетаване на повече от един рисков фактор. Затова индивидите с високорисково поведение и установен вирусен товар са с по-голямо значение за разпространение на вируса в сравнение с останалите заразени хора.

Анализът на резултатите показва при 11 от 14 пациента наличие на един или повече рискови фактори. С един рисков фактор са 7, с два – 2 и с 3 – също два. Факторите са инжекционно приложение на наркотици, кръвопреливане в различно дълъг период в миналото, татуировки, продължителна хемодиализа, стоматологични и хирургически интервенции.

В този раздел са анализирани от епидемиологична гледна точка по-подробно случаите с откриваем вирусен товар.

Показателен случай е № 14 – пациент с остро протичащ ВХ С и усложнени епидемиологичен и социален статус: наркозависим (на хероин от 4 месеца), с няколко татуировки направени преди 1 година, и излежаващ присъда в момента. Той е и най-младият от всички изследвани – 23 годишен. Пробата му е показала най-високи стойности – 39 721, или  $39,7 \times 10^3$  cop/ml. Възприетата в САЩ работна четиристепенна класификация на инфекционистите поставя стойностите на вирусния товар до 1 000 000 вируса в ml (т.е.  $< 10^6$ ) в първа степен – ниско ниво. Най-тежко протичащ инфекциозен процес, с над 25 000 000 вируса в 1 ml (т.е.  $> 25 \times 10^6$ ) във фаза плато (достигане на максимална вирусна концентрация и няколкомесечно задържане), е четвърто ниво. От патогенетична и клинична гледни точки, в този случай протичането на инфекцията към момента на пробовземане е било сравнително благоприятно. Новата антивирусна терапия в нашата страна обаче все още не е масово внедрена, поради което болният не е третиран с такива медикаменти и шансовете му за трайно елиминиране на вируса не са много големи. Спонтанен клирънс е малко вероятен поради допълнително натоварване с токсични (а възможно и с други инфекциозни, освен HCV) агенти. Възможността процесът да хронифицира е по-реална. От епидемиологична гледна точка трябва да се има предвид факта, че след преминаване на острата фаза и дехоспитализация, болният се връща в затвора за доизлежаване на присъда. Там могат да се създадат епидемиологични рискове за други лица, произтичащи от широко разпространената хомосексуална практика в тези институции. Според едно разширено проучване на италиански автори от 2015 г. върху честотата на затворниците, инфектирани с HCV, серологично доказаните в различните затвори и страни варира от 3,1 до 38 %. Появата на нови HCV инфекции в австралийските затвори надвишава 30 на 1 000 човека на година. Затова пациент № 14 се очертава като потенциален източник на инфекция за конкретна затворническа общност, а впоследствие, ако не преустанови наркозависимостта си, и за група инжекционно употребяващи наркотици.

Епидемиологичната анамнеза и социалният статус на пациент № 12 се припокриват с тези на пациент № 14. Касае се за мъж на възраст 36 г. с рецидив, настъпил 7 години след острата фаза. Доказан е вирусен товар 26 986 ( $27 \times 10^3$ ) cop/ml. Налице е съчетаване на същите три рискови фактора. Съображенията за възможната му роля като източник на инфекция сред рискови групи са подобни на описаните по-горе.

В групата на пациентите със сравнително висок вирусен товар спрямо останалите е 57 годишна жена с остър ВХ С (пациент № 3). Установени са 31 667, или  $31,7 \times 10^3$  cop/ml. Единствената информация за кръвна манипулация е претърпяна хирургическа операция преди 3 месеца. Подробен анализ на епидемичната ситуация не може да бъде направен само по отразените в документацията анамнестични данни. Отнасяме случая към категорията неизяснени в епидемично отношение. Рисковете от по-нататъшно разпространение на инфекцията от тази болна не са големи, преди всичко защото пациентката не попада сред уязвимите за ВХ С общности. Другата опасност – инфектиране на медицински персонал след убождане при евентуални следващи рутинни кръвни манипулации също не е голяма. Принципно, опасността от контаминиране на раничка с кръв, съдържаща HCV, в изпълнение на обичайни амбулаторни и болнични процедури се оценява от 1,8 % до 3 % при максималното ниво на виремия – над  $25 \times 10^6$  ( $> 25 000 000$  cop/ml). По-голям риск за персонал (до 6 %) е възможен при сериозни хирургически операции със силно изразено кървене от пациента. В конкретния случай вирусният товар в острата фаза е определено по-нисък границата за първо ниво. Може да се предположи, че епидемичният потенциал след тази фаза няма да е значителен.

Останалите трима пациенти с остър ВХ С и определен вирусен товар (№ 2, № 4 и № 13) също не са посочили конкретни данни с епидемиологично значение. Затова разсъжденията относно предпоставки за епидемиологични рискове са подобни.

В групата на лицата с неоткриваем вирусен товар по-сложен инфекциозен статус има пациент № 9 – 29 годишен мъж. При него е установена активна ко-инфекция туберкулоза. Епидемиологичният му профил е носител на HCV. В миналото е употребявал инжекционно наркотици и това е най-вероятната причина за инфектиране с вируса.

Конкретни манипулации с реален риск за инфектиране са отразени в документацията на пациент № 6 (66 годишна жена) – кръвопреливане през 1970 г. (19 години преди откриването на вируса); пациент № 1 – татуировка през 1967 г. в казармата, № 8 – многогодишна хемодиализа.

Убедителни данни за причината за заразяване има при пациент № 7 и пациент № 11 – мъже, съответно на 41 и 32 години. Двата са с основна диагноза хемофилия, открита много скоро след раждането им. От тогава редовно получават кръвосъсирващ фактор VIII. Като се има предвид факта, че специфичната терапия на това заболяване се провежда с биопродукт и е започнала преди задължителния мониторинг на кръвта от 90-те години, начинът на заразяване при двамата е пределно ясен. Установеното неоткриваемо ниво на HCV принципно е сравнително благоприятно. Хематологичното заболяване обаче при двамата е в тежка форма и прогресира. Това предполага нови предстоящи хоспитализации и нови рискове за медицинския персонал, макар и не толкова големи.

Интересен от клинична гледна точка е пациент № 10 – жена на 46 г. Вирусният хепатит е открит през 2000 година. През 2004 г. е провеждан терапевтичен курс с два медикамента на база интерферон. Кръвната пробата е от края на 2017 г., взета по време на хоспитализация за преминаване към безинтерферонова терапия с протеазни инхибитори. Важен момент от историята на заболяването при болната е извършената през 1995 г. тотална хистеректомия. Ние приемаме версията, че при тази оперативна интервенция е внедрен HCV и съответно е даден старт на инфекцията.

Установеният най-висок вирусен товар е 39 721 cop/ml. Всички клинично проявени случаи по тежест на протичане се отнасят към първа степен с вирусен товар до 1 000 000 вирусни копия в ml. По данни от разширено проучване на П. Теохаров приблизително половината от възникналите ВХС в България са с количество до 100 000 cop/ml.

Резултатът от генотипирането на изолатите може да бъде интерпретиран по следния начин в контекста на пространствената епидемиология: Определеният при всички тествани лица субгенотип 1b на HCV кореспондира с преобладаващия субгенотип в България. Според водещите изследователи на проблема в нашата страна, в различните популационни групи този вариант е доказан от 63,7 % до 77 %. Също така, субгенотип 1b е доминиращ в групата на наркозависимите, следван от 3a. В Европа преобладава генотип 1 с относителен дял 64,4 % от всички вирусни изолати и доминиране на субгенотип 1b. Следващият по честота е генотип 3 с 25,5 % дял. Генотипове 2 (5,5 %) и 4 (3,7 %) са рядко срещани на континента, а генотипове 5 и 6 са незначително представени. Социално-демографската характеристика на проучените от нас пациенти насочва към хипотеза за автохтонна поява на инфекцията сред всичките 14 проследени случая на ВХС.

В заключение правим извода, че молекулярната епидемиология е нов акцент, който надгражда класическата, базирана на имуноанализ, и дава нови перспективи. С включване на методи за определяне на вирусен товар и за генотипиране се преминава от етапа най-общо откриване на инфекцията в етапа количествено определяне на причинителя и максимално точна идентификация по генетични признаци. Методичният комплекс на епидемиологичното проучване, използван при това заболяване, има потребност от подобно осъвременяване. Това ще допринесе за по-прецизно изясняване на конкретната епидемична ситуация, когато проучването се провежда за отделни случаи. Когато проучването е в глобален, регионален или териториално-административен план, с двата метода ще се набират реални данни за обхвата на инфекцията в съответните популации. Лицата доказани като РНК позитивни за HCV, в смисъл че им е определен вирусния товар, ще се оценяват по обективни критерии за инфекциозен и епидемиологичен потенциал.

## Глава VII. Резултати от проучвания относно молекулярно-генетични индикатори на пациенти с ВХ С и обсъждане на резултатите

През 2017 г. стартирахме проучване по научно-изследователски проект №12 на тема „Проучвания върху етиологичната характеристика на вирусен хепатит С в регион Плевен“, финансиран от Медицински университет-Плевен.

Целта на проекта беше да се установи генотипа на HCV в кръвни проби на лица с установена HCV инфекция от регион Плевен.

Разработката предвиждаше и изследвания на кръв от донори с доказано носителство на HCV, открити при скрининг по повод кръводаряване в РЦТХ-Плевен.

Методиката на изследване на кръвните проби е имеразно-верижна реакция в реално време (Real Time PCR) – качествен и количествен вариант. Диагностичните китове са HCV Genotype Real-TM – Real Time PCR за генотипиране на 1a, 1b, 2, 3a, 4, 5a, и 6 HCV генотипове. Това са типове, откривани в Европа. Пробите се изследваха в Лабораторията по вирусология към Катедра „Военна епидемиология и хигиена“ на Военномедицинска академия – София със стандартен диагностичен набор на фирма Елта 90.

### Работен протокол:

#### 1. Екстракция на РНК с търговски кит Ribo Virus на Sacace Biotechnologies

#### 2. Получените 6 проби за екстракция бяха обработени съгласно работния протокол на екстракционния кит както следва:

- В епруетка 1,5 ml се поставя **600 µl буфер RAV 1**, след което се прибавя **150 µl** от изследваната плазма.

- Прибавяне на **10 µl IC вътрешна контрола** и се вортексира за 15 секунди.

- Инкубация на **70°C** за **5 минути**.

- Прибавяне на **600 µl етанол 100 %** и се вортексира за 15 секунди.

- **Колоната с филтри на Ribo Virus** за екстракция на РНК се поставя в епруетка 2 µl.

- Прибавя се **700 µl** от лизираната проба.

- Центрофугира се за **1 минута на 8000g**.

- Изхвърля се отделената течност, а колоната се поставя в нова епруетка 2 µl.

- Прибавя се **500 µl буфер RAW** във филтриращата колона.

- Центрофугира се за **1 минута на 8000g**.

- Изхвърля се отделената течност, а колоната се поставя в нова епруетка 2 µl.

- Прибавя се **600 µl буфер RAV 3** във филтриращата колона.

- Центрофугира се за **1 минута на 8000g**.

- Изхвърля се отделената течност, а колоната се поставя в нова епруетка 2 µl.

- Прибавя се **200 µl буфер RAV 3** във филтриращата колона.

- Центрофугира се за **5 минути на 11 000g**.

- Инкубация на **70°C** за **1 минута** на епруетките с отворени капачки за напълно отделяне на етанола, съдържащ се в буфер RAV 3.

- **Колоната с филтри на Ribo Virus** за екстракция на РНК се поставя в нова епруетка 1,5 µl.

- Прибавя се **50 µl H<sub>2</sub>O** (свободна от РНК).

- Инкубация на **70°C** за **2 минути**.

- Центрофугира се за **1 минута на 11 000g**.

- Отделената РНК се замразява и съхранява от **- 20°C** до **- 70°C** до 1 година.

#### 3. Протокол за получаване на ДНК (сору DNA) от РНК чрез обратна транскрипция.

- Приготвяне на **Реакционната смес** по формула в зависимост от броя обработвани проби (N): **10xN µl** от RT-mix, **0,4xN µl** от RT-G-mix-1 и **0,5xN µl** от M-MLV (Обратна транскриптаза).

- Прибавяне на **10 µl** от **Реакционната смес** във всяка епруетка.

- Прибавяне на **10 µl** от получената **РНК** в съответната епруетка.

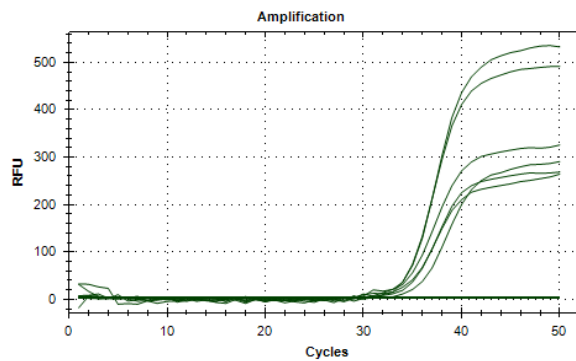
- Инкубация на **37°C** за **30 минути**.

- Прибавя се **20 µl TE буфер** във всяка епруетка.

- Отделената ДНК (сору DNA) се замразява и съхранява от **- 20°C** до **- 70°C** до 1 година.

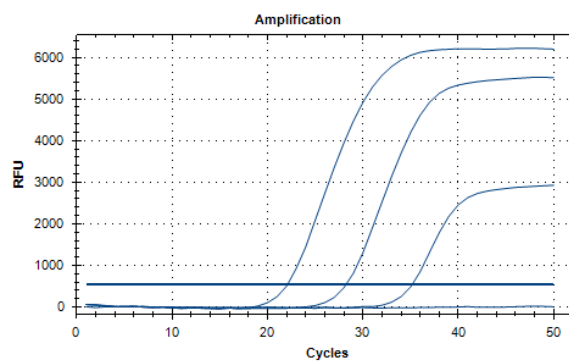
#### 4. Протокол за real time PCR.

- Приготвяне на **Мастър микс** съответно за генотипи "1b/3"; "1b/3", за генотип 4 и вътрешната контрола "4/IC" и за генотипи "5a/6".
- Прибавяне на **10 µl** от **PCR-mix-1-FRT HCV** в зависимост от търсения генотип; **5 µl** от **RT-PCR-mix-2-TM** и **0,5 µl** от полимераза (**TaqF**).
- Прибавяне на **15 µl** от **Мастър микс**, **10 µl** от **ДНК** (copy DNA) и **10 µl** положителни и отрицателна контрола във всяка епруветка.
- Инкубация на **95°C** за **15 минути**.
- 5 цикъла включващи: **95°C** за **5 секунди**, **60°C** за **20 секунди** и **72°C** за **15 секунди**.
- 40 цикъла включващи: **95°C** за **5 секунди**, **60°C** за **30 секунди** и **72°C** за **15 секунди**.
- В края на всеки цикъл се отчита флуоресцентния сигнал.



Фиг. 21. Internal Control Proba 1-6 Dye HEX

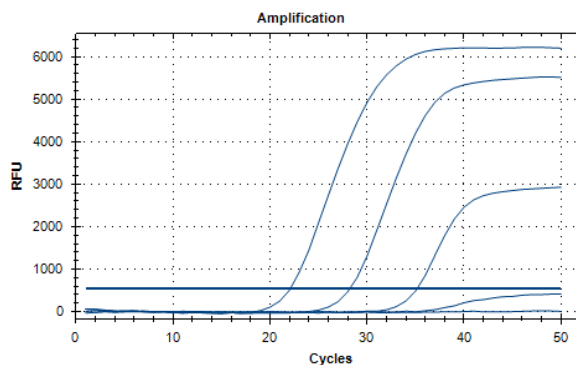
Отчетените флуоресцентни сигнали на вътрешните контроли на шестте изследвани проби със флуоресцентна боя HEX.



Фиг. 22. QS1 (1E1 IU/µl), QS3 (1E3 IU/µl), QS5 (1E5 IU/µl) & NTC (non-template control)

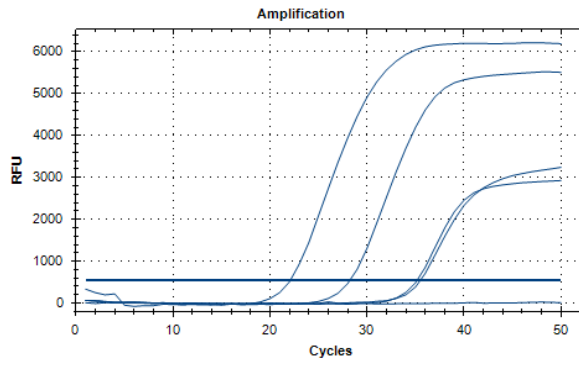
Отчетените флуоресцентни сигнали на положителните контроли QS1 (10 IU/µl), QS3 (10<sup>3</sup> IU/µl), QS5 (10<sup>5</sup> IU/µl) и отрицателната контрола с флуоресцентна боя FAM.

Proba 1:



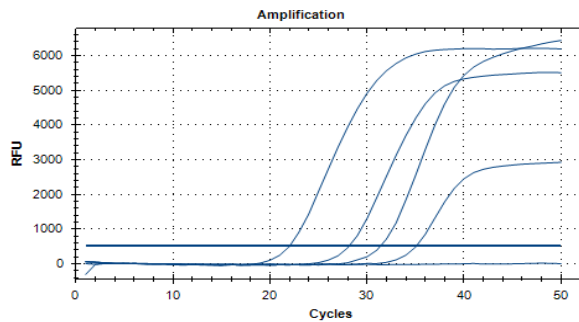
Фиг. 23. Отчетените флуоресцентни сигнали на положителните контроли QS1 (10 IU/µl), QS3 (10<sup>3</sup> IU/µl), QS5 (10<sup>5</sup> IU/µl), отрицателната контрола и проба 1, която е отрицателна и се намира под линията, показваща положителна концентрация на HCV с флуоресцентна боя FAM.

Proba 2: 7.210 IU/μl (1850 IU/ml)



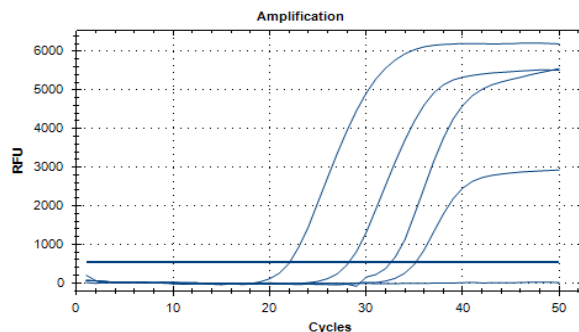
**Фиг. 24.** Отчетените флуоресцентни сигнали на положителните контроли QS1 (10 IU/μl), QS3 (10<sup>3</sup> IU/μl), QS5 (10<sup>5</sup> IU/μl), отрицателната контрола и проба 2, която е положителна, показваща положителна концентрация 7.210 IU/μl на HCV, отговарящо на 1850 вирусни копия на ml с флуоресцентна боя FAM.

Proba 3: 1.235 1e2 IU/μl (31 667 IU/ml)



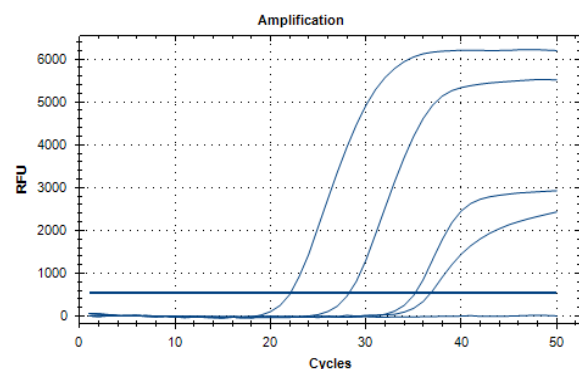
**Фиг. 25.** Отчетените флуоресцентни сигнали на положителните контроли QS1 (10 IU/μl), QS3 (10<sup>3</sup> IU/μl), QS5 (10<sup>5</sup> IU/μl), отрицателната контрола и проба 3, която е положителна, показваща положителна концентрация 1.235x10<sup>2</sup> IU/μl на HCV, отговарящо на 31 667 вирусни копия на ml с флуоресцентна боя FAM.

Proba 4: 5.612 1e1 IU/μl (14 390 IU/ml)



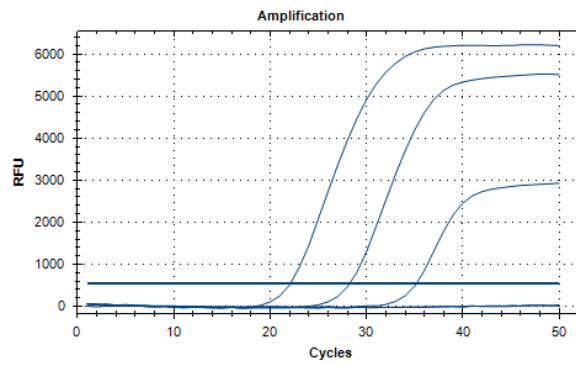
**Фиг. 26.** Отчетените флуоресцентни сигнали на положителните контроли QS1 (10 IU/μl), QS3 (10<sup>3</sup> IU/μl), QS5 (10<sup>5</sup> IU/μl), отрицателната контрола и проба 4, която е положителна, показваща положителна концентрация 5.2612x10 IU/μl на HCV, отговарящо на 14 390 вирусни копия на ml с флуоресцентна боя FAM.

Proba 5: 2.9 IU/μl (745 IU/ml)



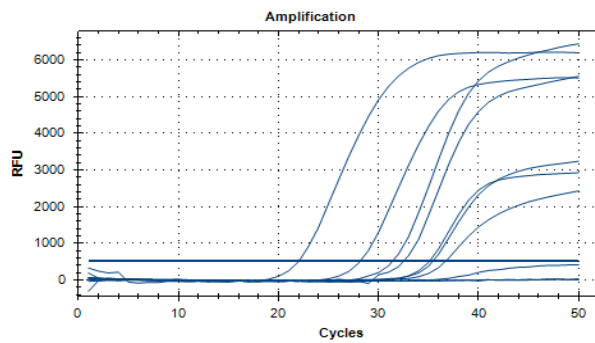
**Фиг. 27.** Отчетените флуоресцентни сигнали на положителните контроли QS1 (10 IU/μl), QS3 (10<sup>3</sup> IU/μl), QS5 (10<sup>5</sup> IU/μl), отрицателната контрола и проба 5, която е положителна, показваща положителна концентрация 2.9 IU/μl на HCV, отговарящо на 745 вирусни копия на ml с флуоресцентна боя FAM.

Proba 6

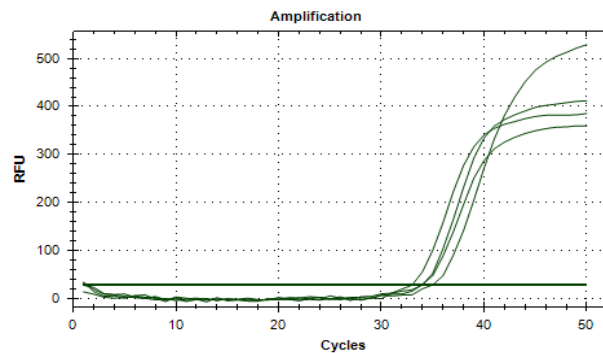


**Фиг. 28.** Отчетените флуоресцентни сигнали на положителните контроли QS1 (10 IU/μl), QS3 (10<sup>3</sup> IU/μl), QS5 (10<sup>5</sup> IU/μl), отрицателната контрола и проба 6, която е отрицателна и се намира под линията, показваща положителна концентрация на HCV с флуоресцентна боя FAM.

All samples FAM

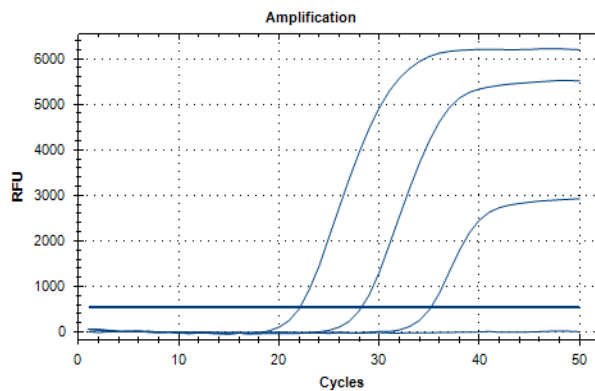


**Фиг. 29.** Отчетените флуоресцентни сигнали на положителните контроли QS1 (10 IU/μl), QS3 (10<sup>3</sup> IU/μl), QS5 (10<sup>5</sup> IU/μl), отрицателната контрола и проби от 1 до 6 с флуоресцентна боя FAM.



Internal Control Proba 7-10 Dye HEX

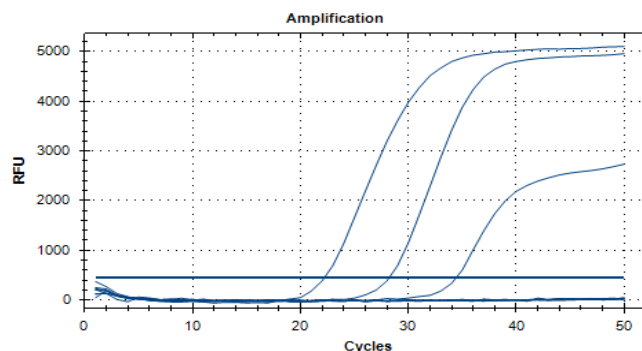
**Фиг. 30.** Отчетените флуоресцентни сигнали на вътрешните контроли на изследваните проби 7-10 с флуоресцентна боя HEX.



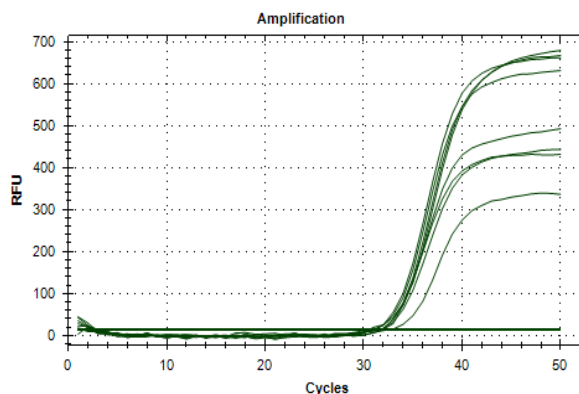
**Фиг. 31.** QS1 (1E1 IU/μl), QS3 (1E3 IU/μl), QS5 (1E5 IU/μl) & NTC (non-template control)  
Отчетените флуоресцентни сигнали на положителните контроли QS1 (10 IU/μl), QS3 (10<sup>3</sup> IU/μl), QS5 (10<sup>5</sup> IU/μl) и отрицателната контрола с флуоресцентна боя FAM.



Proba 7-10 & QS1,3,5, NTC (FAM) Положителните контроли и проби 7,8,9 и 10 са отрицателни, отчетени със флуоресцентна боя FAM.

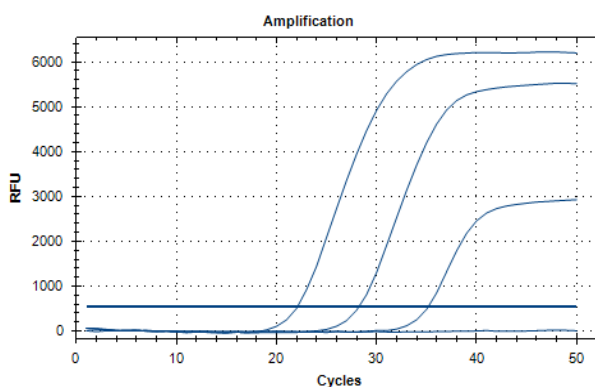


Фиг. 32. & QS1,3,5, NTC (FAM) Положителните контроли и проби 7,8,9 и 10 са отрицателни, отчетени със флуоресцентна боя FAM.



Фиг. 33. Internal Control Proba 11-18 Dye HEX

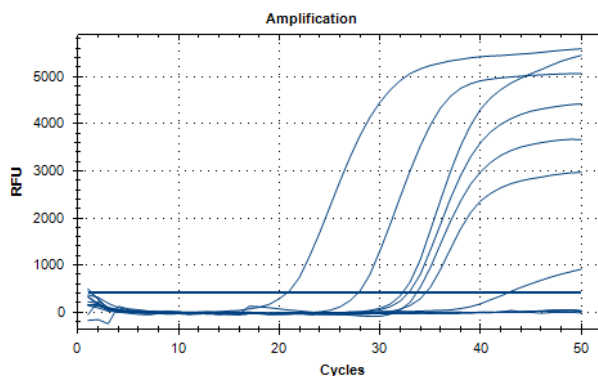
Отчетените флуоресцентни сигнали на вътрешните контроли на изследваните проби 11-18 с флуоресцентна боя HEX.



Фиг. 34. QS1 (1E1 IU/μl), QS3 (1E3 IU/μl), QS5 (1E5 IU/μl) & NTC (non-template control)

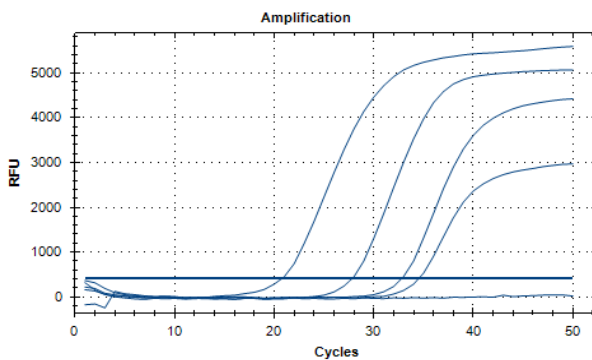
Отчетените флуоресцентни сигнали на положителните контроли QS1 (10 IU/μl), QS3 (10<sup>3</sup> IU/μl), QS5 (10<sup>5</sup> IU/μl) и отрицателната контрола с флуоресцентна боя FAM.

Proba 12,13,14,18 & QS1,3,5, NTC (FAM)



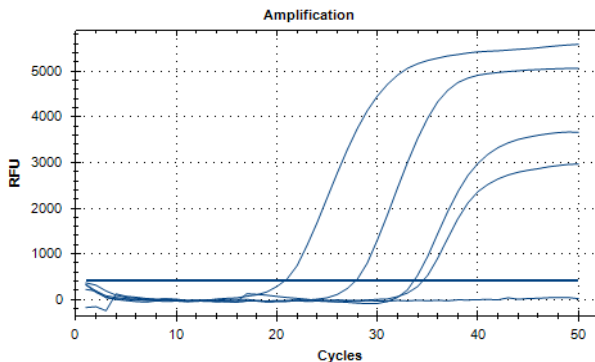
Фиг. 35. Отчетените флуоресцентни сигнали на положителните контроли QS1, QS3, QS5, отрицателната контрола и положителните проби 12,13,14,18 със флуоресцентна боя FAM

Proba 12: 32.89 IU/ $\mu$ l (8433 IU/ml)



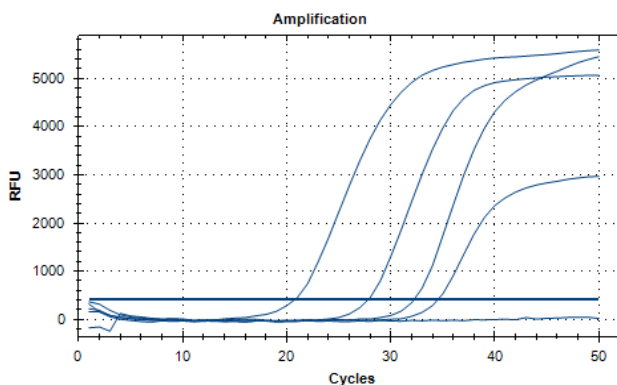
**Фиг. 36.** Отчетените флуоресцентни сигнали на положителните контроли QS1, QS3, QS5, отрицателната контрола и положителната проба 12 с флуоресцентна боя FAM.

Proba 13: 18.98 IU/ $\mu$ l (4867 IU/ml)



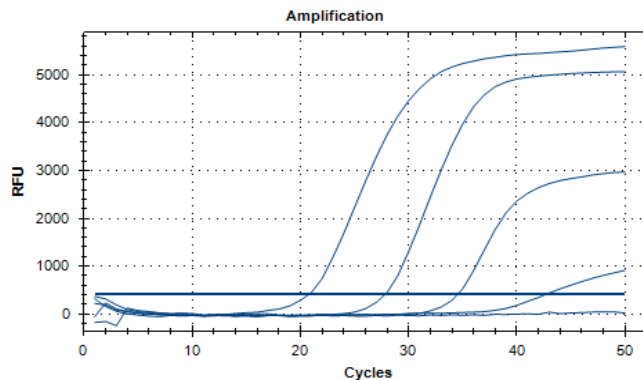
**Фиг. 37.** Отчетените флуоресцентни сигнали на положителните контроли QS1, QS3, QS5, отрицателната контрола и положителната проба 13 с флуоресцентна боя FAM.

Proba 14: 48.41 IU/ $\mu$ l (12 413 IU/ml)

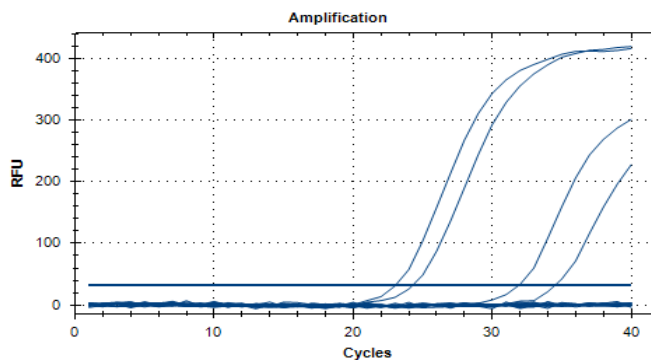


**Фиг. 38.** Отчетените флуоресцентни сигнали на положителните контроли QS1, QS3, QS5, отрицателната контрола и положителната проба 14 с флуоресцентна боя FAM.

Proba 18: 4.391 IU/ $\mu$ l (11 IU/ml)

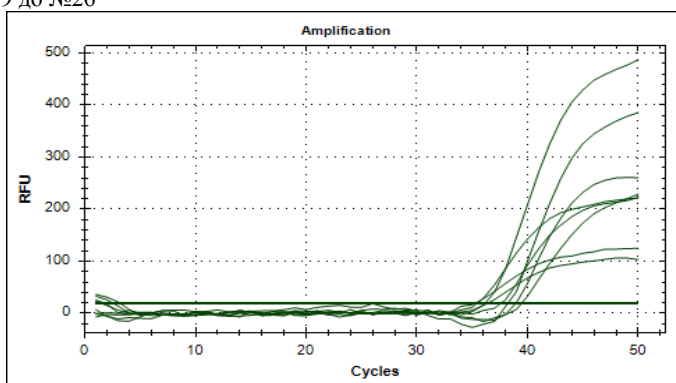


**Фиг. 39.** Отчетените флуоресцентни сигнали на положителните контроли QS1, QS3, QS5, отрицателната контрола и положителната проба 18 с флуоресцентна боя FAM.

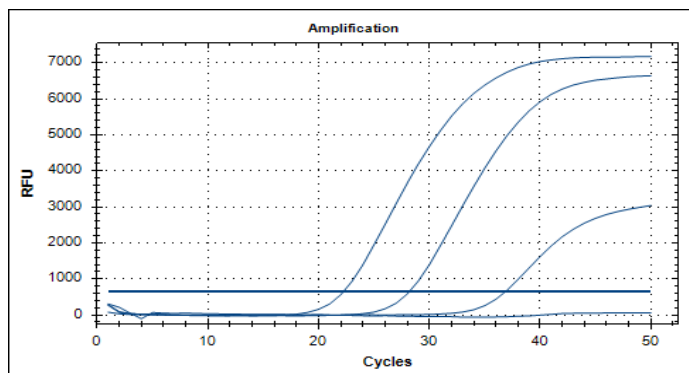


**Фиг. 40.** Отчетените флуоресцентни сигнали генотипирането и субгенотипирането на положителните проби 12,13,14 и 18 с флуоресцентна боя FAM, всички проби са субгенотип 1b.

Изследване на 8 бр. проби от №19 до №26

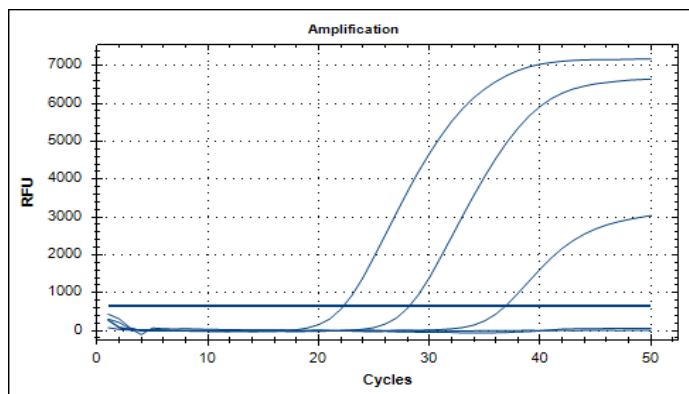


**Фиг. 41.** Отчетените флуоресцентни сигнали на вътрешните контроли на проби от №19 до №26 със флуоресцентна боя HEX. Вътрешните контроли са гаранция за качествено извършена екстракция на РНК и спазени всички температурни и времеви условия на амплификационния протокол при извършване на real-time PCR.



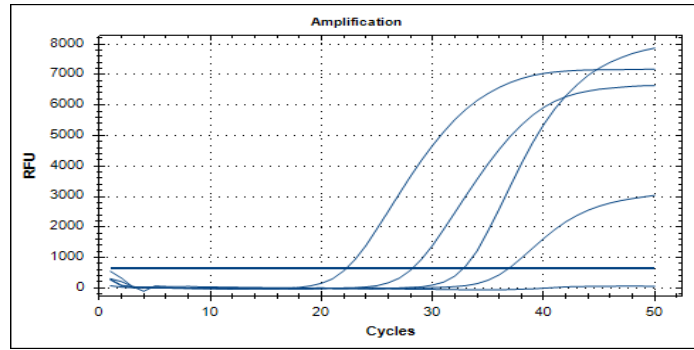
**Фиг. 42.** Отчетените флуоресцентни сигнали на положителните контроли QS1 (10 IU/μl), QS3 (10<sup>3</sup> IU/μl), QS5 (10<sup>5</sup> IU/μl) и отрицателната контрола с флуоресцентна боя FAM.

проба №19



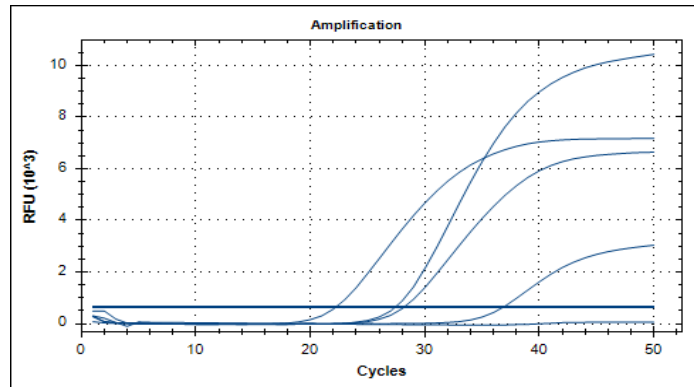
**Фиг. 43.** Отчетените флуоресцентни сигнали на положителните контроли QS1 (10 IU/μl), QS3 (10<sup>3</sup> IU/μl), QS5 (10<sup>5</sup> IU/μl), отрицателната контрола и проба 19, която е отрицателна и се намира под линията, показваща положителна концентрация на HCV с флуоресцентна боя FAM.

проба №20 48 358 IU/ml



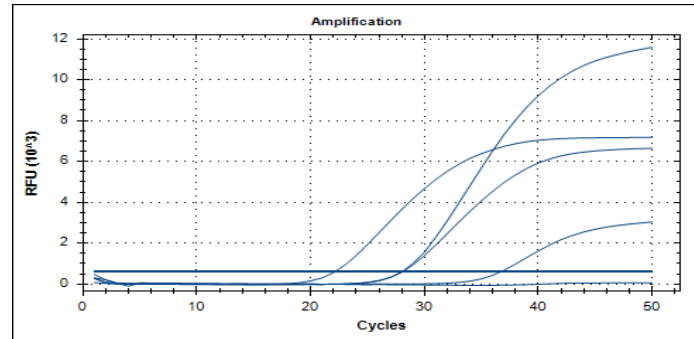
Фиг. 44. Отчетените флуоресцентни сигнали на положителните контроли QS1 (10 IU/μl), QS3 (10<sup>3</sup> IU/μl), QS5 (10<sup>5</sup> IU/μl), отрицателната контрола и проба 20, която е положителна, показваща положителна концентрация на HCV, отговарящо на 48 358 вирусни копия на ml с флуоресцентна боя FAM.

проба №21 193 430 IU/ml



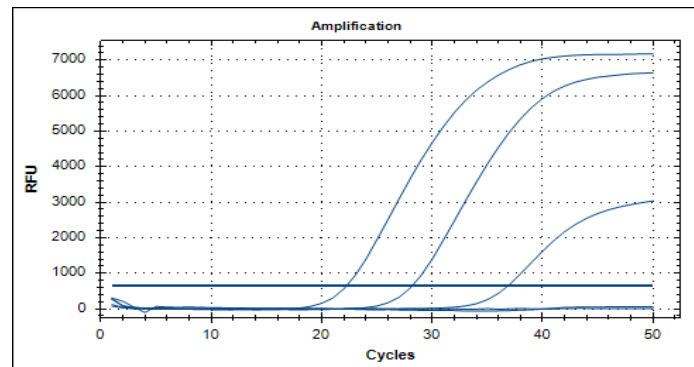
Фиг. 45. Отчетените флуоресцентни сигнали на положителните контроли QS1 (10 IU/μl), QS3 (10<sup>3</sup> IU/μl), QS5 (10<sup>5</sup> IU/μl), отрицателната контрола и проба 21, която е положителна, показваща положителна концентрация на HCV, отговарящо на 193 430 вирусни копия на ml с флуоресцентна боя FAM.

проба №22 386 860 IU/ml



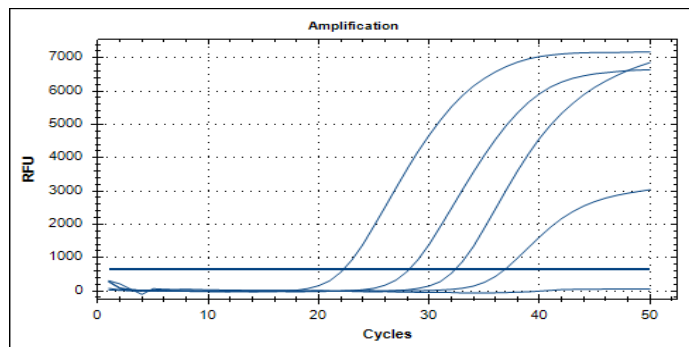
Фиг. 46. Отчетените флуоресцентни сигнали на положителните контроли QS1 (10 IU/μl), QS3 (10<sup>3</sup> IU/μl), QS5 (10<sup>5</sup> IU/μl), отрицателната контрола и проба 22, която е положителна, показваща положителна концентрация на HCV, отговарящо на 386 860 вирусни копия на ml с флуоресцентна боя FAM.

проба №23



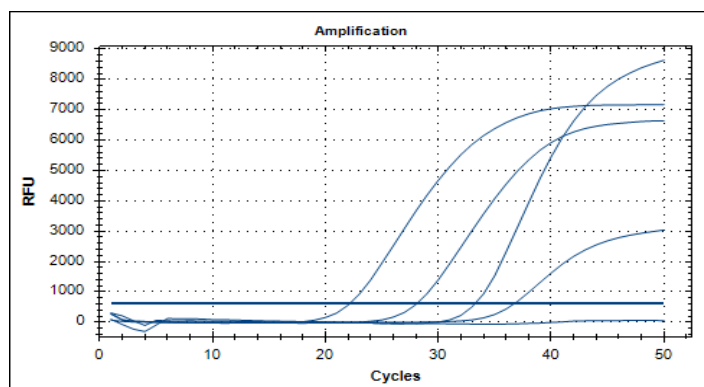
Фиг. 47. Отчетените флуоресцентни сигнали на положителните контроли QS1 (10 IU/μl), QS3 (10<sup>3</sup> IU/μl), QS5 (10<sup>5</sup> IU/μl), отрицателната контрола и проба 23, която е отрицателна и се намира под линията, показваща положителна концентрация на HCV с флуоресцентна боя FAM.

проба №24 24 179 IU/ml



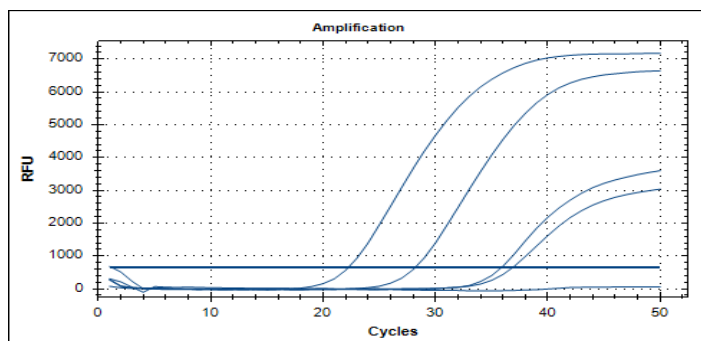
**Фиг. 48.** Отчетените флуоресцентни сигнали на положителните контроли QS1 (10 IU/μl), QS3 (10<sup>3</sup> IU/μl), QS5 (10<sup>5</sup> IU/μl), отрицателната контрола и проба 24, която е положителна, показваща положителна концентрация на HCV, отговарящо на 24 179 вирусни копия на ml с флуоресцентна боя FAM.

проба №25 49 167 IU/ml



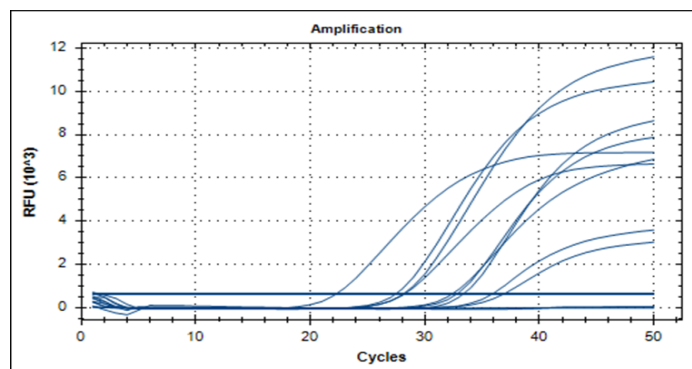
**Фиг. 49.** Отчетените флуоресцентни сигнали на положителните контроли QS1 (10 IU/μl), QS3 (10<sup>3</sup> IU/μl), QS5 (10<sup>5</sup> IU/μl), отрицателната контрола и проба 25, която е положителна, показваща положителна концентрация на HCV, отговарящо на 49 167 вирусни копия на ml с флуоресцентна боя FAM.

проба №26 6 045 IU/ml



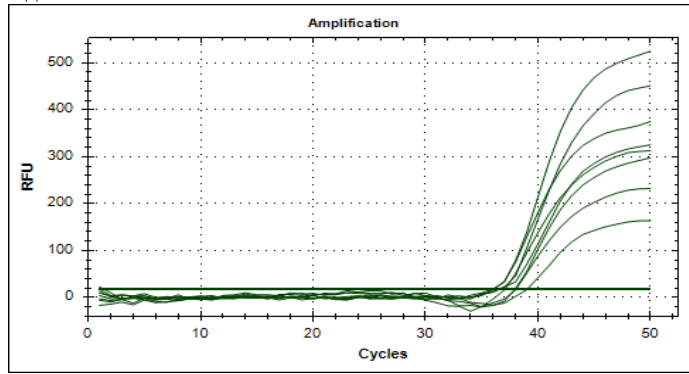
**Фиг. 50.** Отчетените флуоресцентни сигнали на положителните контроли QS1 (10 IU/μl), QS3 (10<sup>3</sup> IU/μl), QS5 (10<sup>5</sup> IU/μl), отрицателната контрола и проба 26, която е положителна, показваща положителна концентрация на HCV, отговарящо на 6 045 вирусни копия на ml с флуоресцентна боя FAM.

проби от №19 до №26 общо

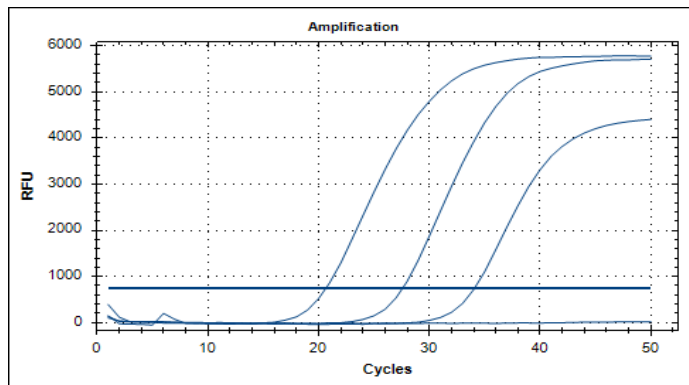


**Фиг. 51.** Отчетените флуоресцентни сигнали на положителните контроли QS1 (10 IU/μl), QS3 (10<sup>3</sup> IU/μl), QS5 (10<sup>5</sup> IU/μl), отрицателната контрола и проби от №19 до №26 с флуоресцентна боя FAM.

Изследване на 8 бр.проби от №27 до №34

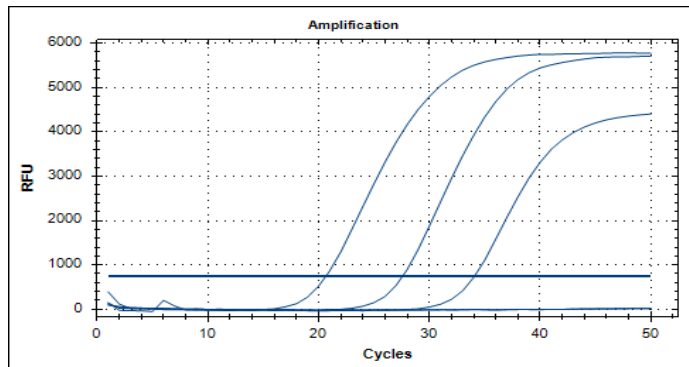


Фиг. 52. Отчетените флуоресцентни сигнали на вътрешните контроли на проби от №19 до №26 със флуоресцентна боя HEX. Вътрешните контроли са гаранция за качествено извършена екстракция на РНК и спазени всички температурни и времеви условия на амплификационния протокол при извършване на real-time PCR.



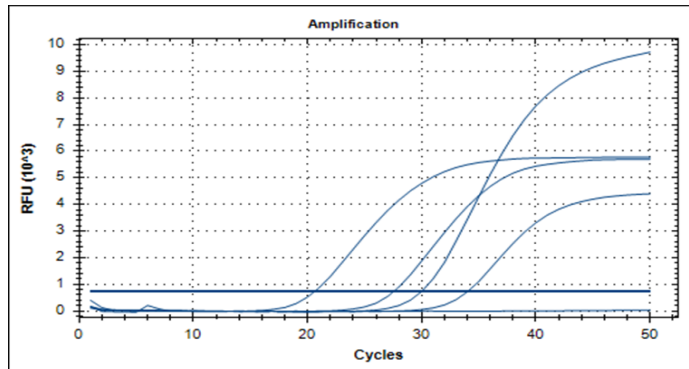
Фиг. 53. Отчетените флуоресцентни сигнали на положителните контроли QS1 (10 IU/μl), QS3 (10<sup>3</sup> IU/μl), QS5 (10<sup>5</sup> IU/μl) и отрицателната контрола с флуоресцентна боя FAM.

проба №27



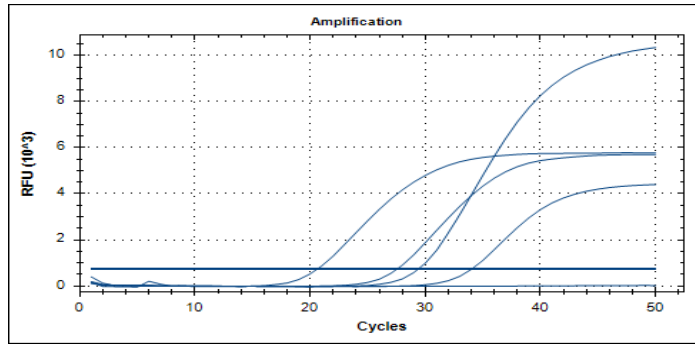
Фиг. 54. Отчетените флуоресцентни сигнали на положителните контроли QS1 (10 IU/μl), QS3 (10<sup>3</sup> IU/μl), QS5 (10<sup>5</sup> IU/μl), отрицателната контрола и проба 27, която е отрицателна и се намира под линията, показваща положителна концентрация на HCV с флуоресцентна боя FAM.

проба №28 56 972 IU/ml



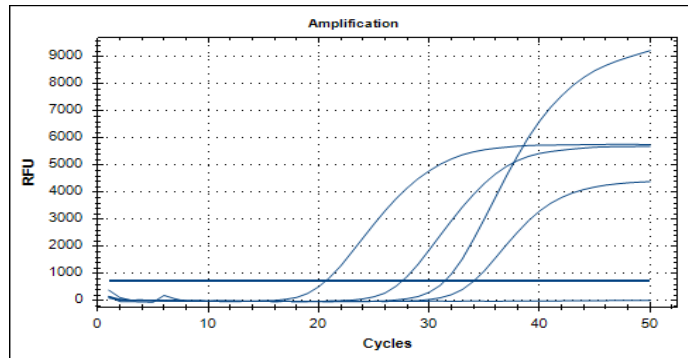
Фиг. 55. Отчетените флуоресцентни сигнали на положителните контроли QS1 (10 IU/μl), QS3 (10<sup>3</sup> IU/μl), QS5 (10<sup>5</sup> IU/μl), отрицателната контрола и проба 28, която е положителна, показваща положителна концентрация на HCV, отговарящо на 56 972 вирусни копия на ml с флуоресцентна боя FAM.

проба №29 182 610 IU/ml



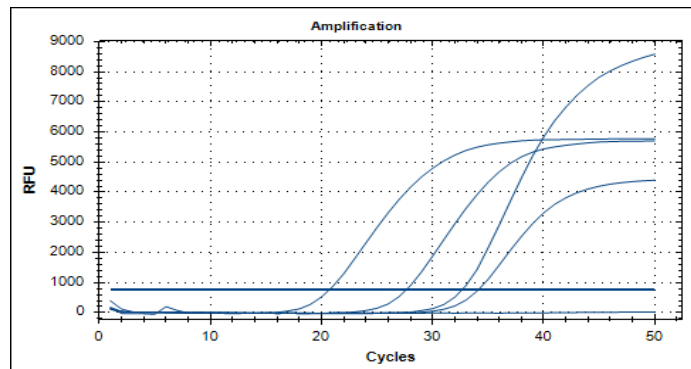
Фиг. 56. Отчетените флуоресцентни сигнали на положителните контроли QS1 (10 IU/μl), QS3 (10<sup>3</sup> IU/μl), QS5 (10<sup>5</sup> IU/μl), отрицателната контрола и проба 29, която е положителна, показваща положителна концентрация на HCV, отговарящо на 182 610 вирусни копия на ml с флуоресцентна боя FAM.

проба №30 45 726 IU/ml



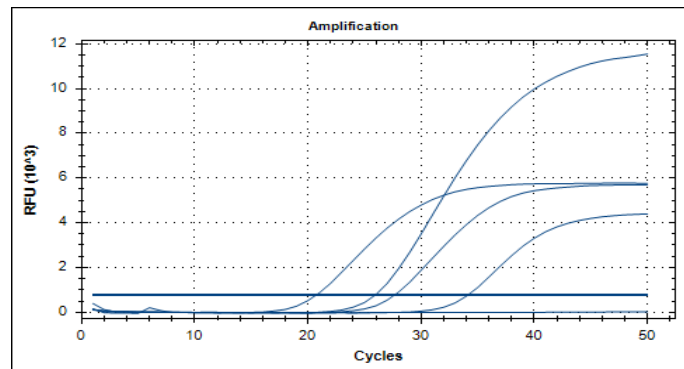
Фиг. 57. Отчетените флуоресцентни сигнали на положителните контроли QS1 (10 IU/μl), QS3 (10<sup>3</sup> IU/μl), QS5 (10<sup>5</sup> IU/μl), отрицателната контрола и проба 30, която е положителна, показваща положителна концентрация на HCV, отговарящо на 45 726 вирусни копия на ml със флуоресцентна боя FAM.

проба №31 35 570 IU/ml



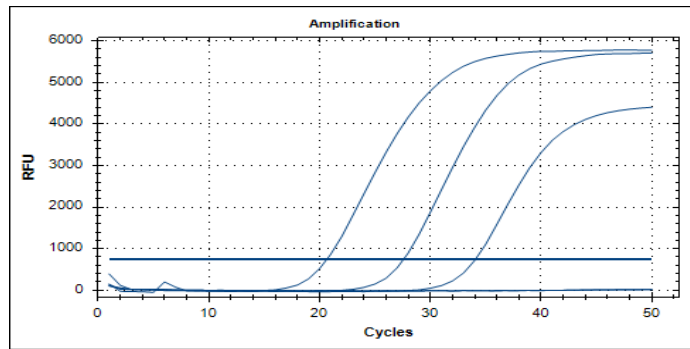
Фиг. 58. Отчетените флуоресцентни сигнали на положителните контроли QS1 (10 IU/μl), QS3 (10<sup>3</sup> IU/μl), QS5 (10<sup>5</sup> IU/μl), отрицателната контрола и проба 31, която е положителна, показваща положителна концентрация на HCV, отговарящо на 35 570 вирусни копия на ml с флуоресцентна боя FAM.

проба №32 371 493 IU/ml



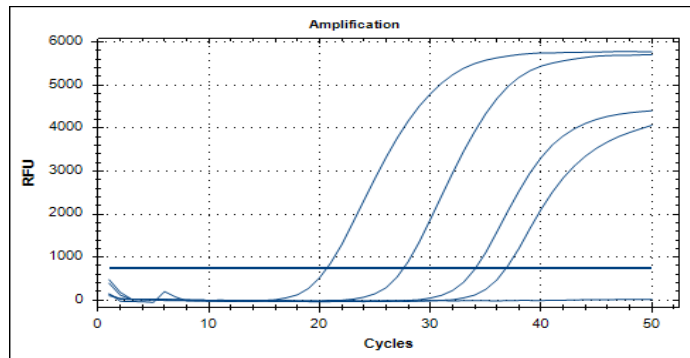
Фиг. 59. Отчетените флуоресцентни сигнали на положителните контроли QS1 (10 IU/μl), QS3 (10<sup>3</sup> IU/μl), QS5 (10<sup>5</sup> IU/μl), отрицателната контрола и проба 32, която е положителна, показваща положителна концентрация на HCV, отговарящо на 371 493 вирусни копия на ml с флуоресцентна боя FAM.

проба №33



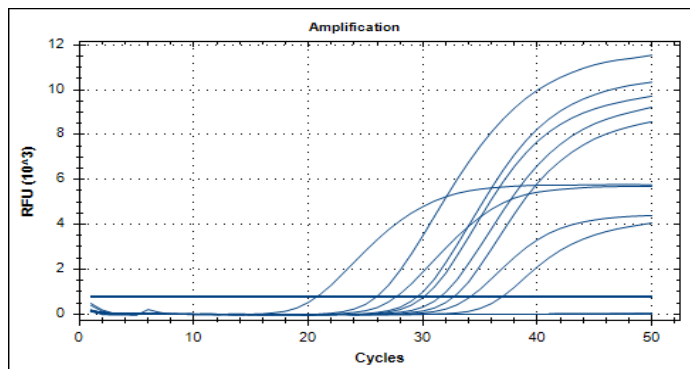
Фиг. 60. Отчетените флуоресцентни сигнали на положителните контроли QS1 (10 IU/μl), QS3 (10<sup>3</sup> IU/μl), QS5 (10<sup>5</sup> IU/μl), отрицателната контрола и проба 33, която е отрицателна и се намира под линията, показваща положителна концентрация на HCV с флуоресцентна боя FAM.

проба №34 756 IU/ml



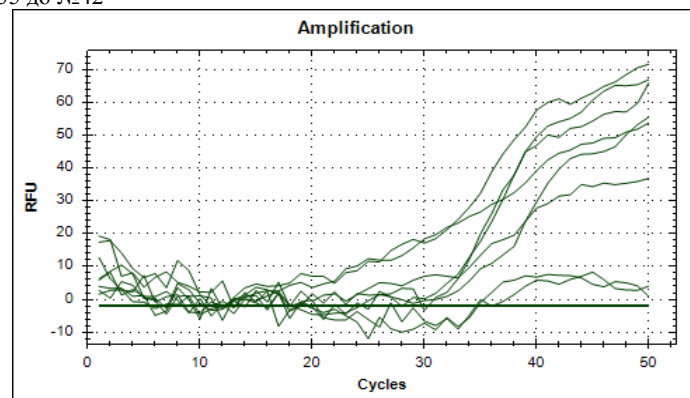
Фиг. 61. Отчетените флуоресцентни сигнали на положителните контроли QS1 (10 IU/μl), QS3 (10<sup>3</sup> IU/μl), QS5 (10<sup>5</sup> IU/μl), отрицателната контрола и проба 34, която е положителна, показваща положителна концентрация на HCV, отговарящо на 756 вирусни копия на ml с флуоресцентна боя FAM.

проби от №27 до №34 общо



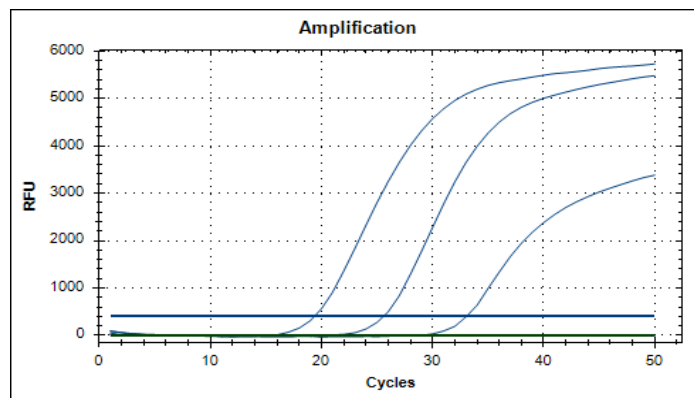
Фиг. 62. Отчетените флуоресцентни сигнали на положителните контроли QS1 (10 IU/μl), QS3 (10<sup>3</sup> IU/μl), QS5 (10<sup>5</sup> IU/μl), отрицателната контрола и проби от №27 до №34 с флуоресцентна боя FAM.

Изследване на 8 бр.проби от №35 до №42



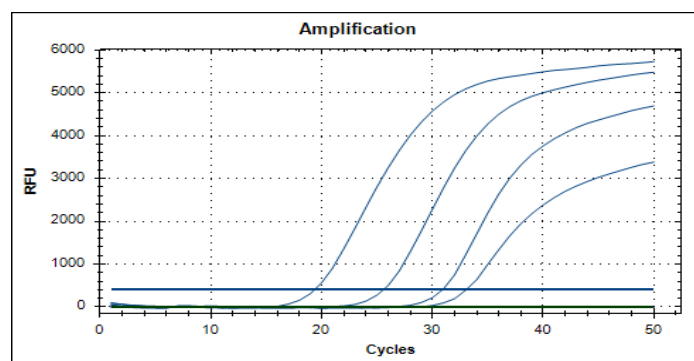
Фиг. 63. Отчетените флуоресцентни сигнали на вътрешните контроли на проби от №35 до №42 със флуоресцентна боя HEX. Вътрешните контроли са гаранция за качествено извършена екстракция на РНК и спазени всички температурни и времеви условия на амплификационния протокол при извършване на real-time PCR.





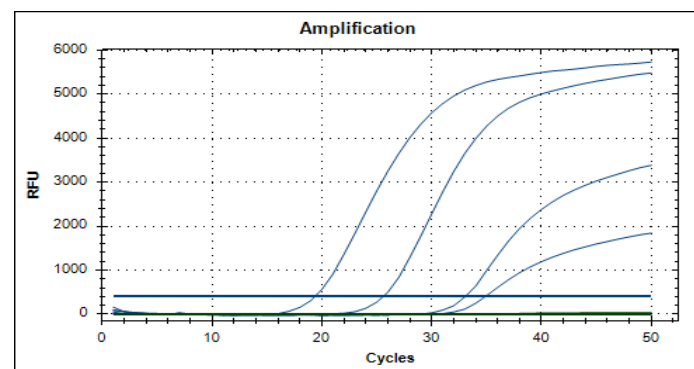
**Фиг. 64.** Отчетените флуоресцентни сигнали на положителните контроли QS1 (10 IU/μl), QS3 (10<sup>3</sup> IU/μl), QS5 (10<sup>5</sup> IU/μl) и отрицателната контрола с флуоресцентна боя FAM.

проба №35 5 793 IU/ml



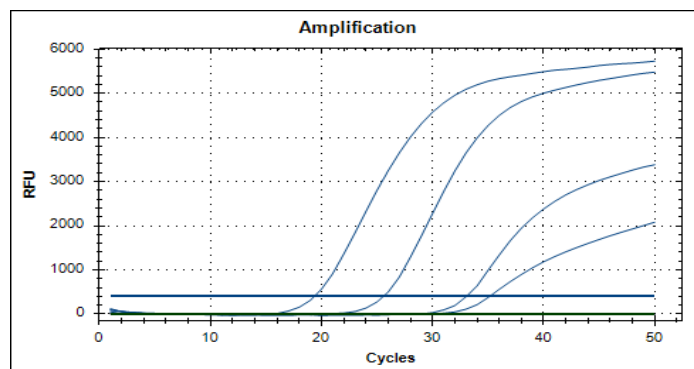
**Фиг. 65.** Отчетените флуоресцентни сигнали на положителните контроли QS1 (10 IU/μl), QS3 (10<sup>3</sup> IU/μl), QS5 (10<sup>5</sup> IU/μl), отрицателната контрола и проба 35, която е положителна, показваща положителна концентрация на HCV, отговарящо на 5 793 вирусни копия на ml с флуоресцентна боя FAM.

проба №36 513 IU/ml



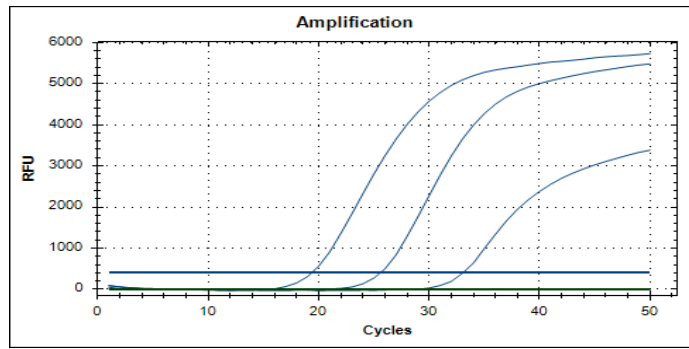
**Фиг. 66.** Отчетените флуоресцентни сигнали на положителните контроли QS1 (10 IU/μl), QS3 (10<sup>3</sup> IU/μl), QS5 (10<sup>5</sup> IU/μl), отрицателната контрола и проба 36, която е положителна, показваща положителна концентрация на HCV, отговарящо на 513 вирусни копия на ml с флуоресцентна боя FAM.

проба №37 683 IU/ml



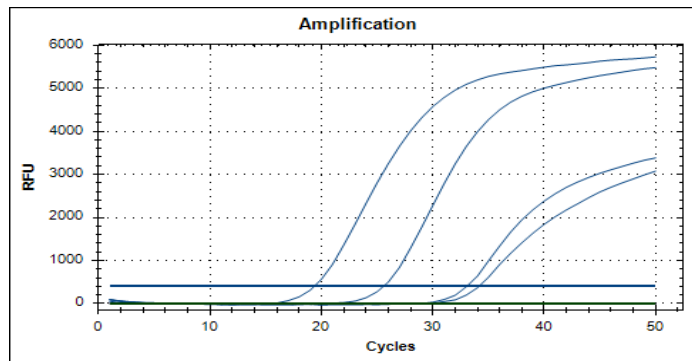
**Фиг. 67.** Отчетените флуоресцентни сигнали на положителните контроли QS1 (10 IU/μl), QS3 (10<sup>3</sup> IU/μl), QS5 (10<sup>5</sup> IU/μl), отрицателната контрола и проба 37, която е положителна, показваща положителна концентрация на HCV, отговарящо на 683 вирусни копия на ml с флуоресцентна боя FAM.

проба №38



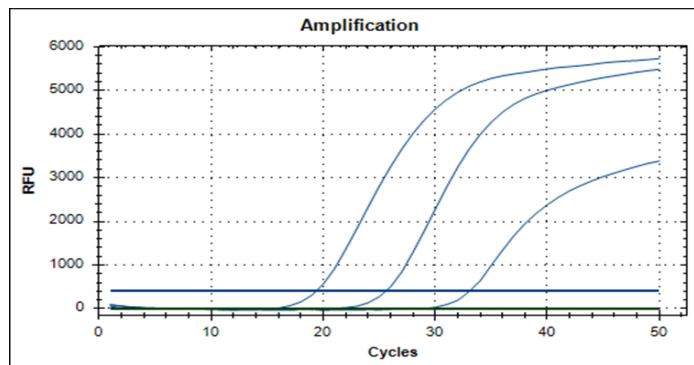
**Фиг. 68.** Отчетените флуоресцентни сигнали на положителните контроли QS1 (10 IU/μl), QS3 (10<sup>3</sup> IU/μl), QS5 (10<sup>5</sup> IU/μl), отрицателната контрола и проба 38, която е отрицателна и се намира под линията, показваща положителна концентрация на HCV с флуоресцентна боя FAM.

проба №39 1 123 IU/ml



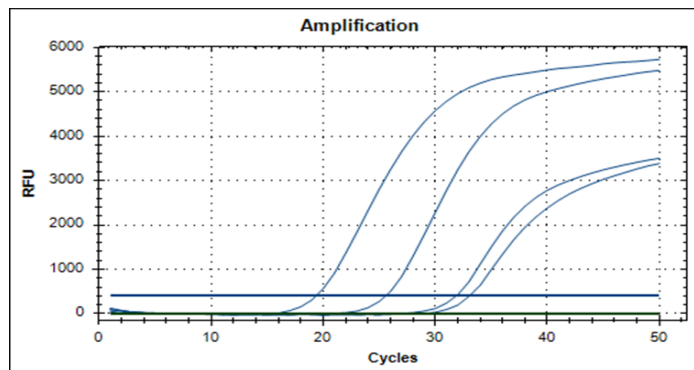
**Фиг. 69.** Отчетените флуоресцентни сигнали на положителните контроли QS1 (10 IU/μl), QS3 (10<sup>3</sup> IU/μl), QS5 (10<sup>5</sup> IU/μl), отрицателната контрола и проба 39, която е положителна, показваща положителна концентрация на HCV, отговарящо на 1 123 вирусни копия на ml с флуоресцентна боя FAM.

проба №40



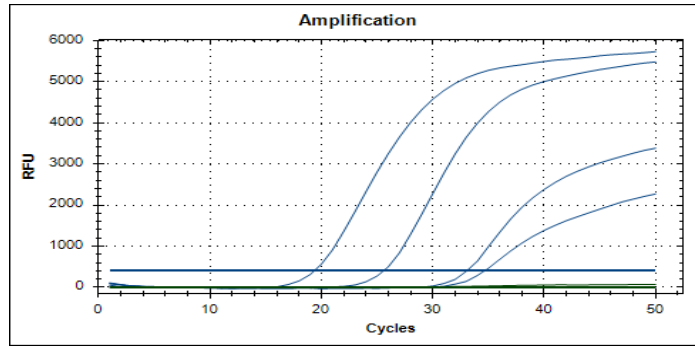
**Фиг. 70.** Отчетените флуоресцентни сигнали на положителните контроли QS1 (10 IU/μl), QS3 (10<sup>3</sup> IU/μl), QS5 (10<sup>5</sup> IU/μl), отрицателната контрола и проба 40, която е отрицателна и се намира под линията, показваща положителна концентрация на HCV с флуоресцентна боя FAM.

проба №41 1 345 IU/ml



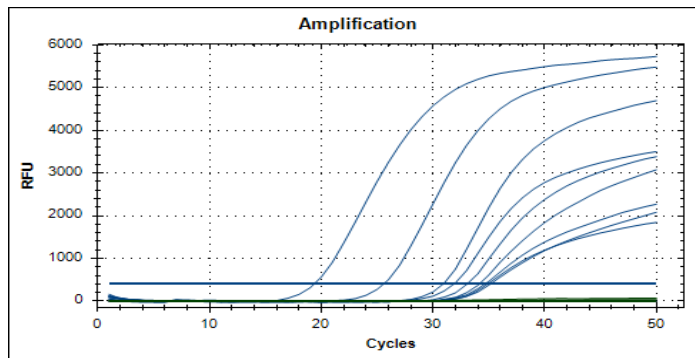
**Фиг. 71.** Отчетените флуоресцентни сигнали на положителните контроли QS1 (10 IU/μl), QS3 (10<sup>3</sup> IU/μl), QS5 (10<sup>5</sup> IU/μl), отрицателната контрола и проба 41, която е положителна, показваща положителна концентрация на HCV, отговарящо на 1 345 вирусни копия на ml с флуоресцентна боя FAM.

проба №42 722 IU/ml



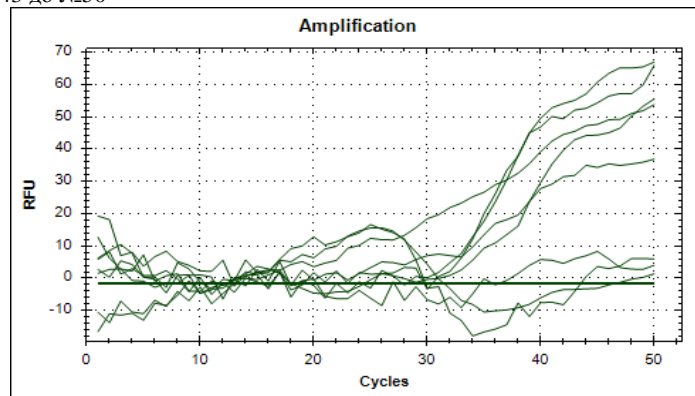
**Фиг. 72.** Отчетените флуоресцентни сигнали на положителните контроли QS1 (10 IU/μl), QS3 (10<sup>3</sup> IU/μl), QS5 (10<sup>5</sup> IU/μl), отрицателната контрола и проба 42, която е положителна, показваща положителна концентрация на HCV, отговарящо на 722 вирусни копия на ml с флуоресцентна боя FAM.

проби от №35 до №42 общо

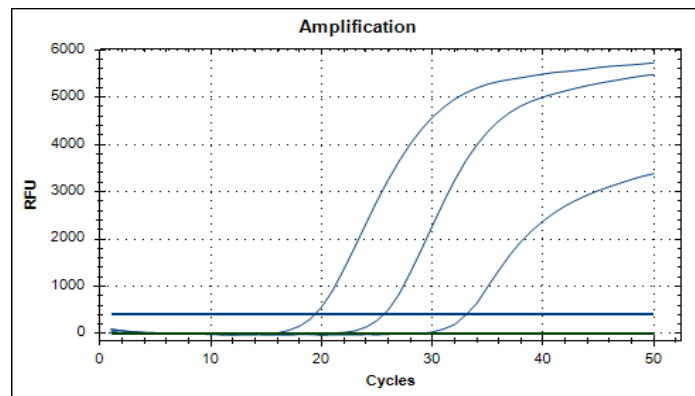


**Фиг. 73.** Отчетените флуоресцентни сигнали на положителните контроли QS1 (10 IU/μl), QS3 (10<sup>3</sup> IU/μl), QS5 (10<sup>5</sup> IU/μl), отрицателната контрола и проби от №35 до №42 с флуоресцентна боя FAM.

Изследване на 8 бр.проби от №43 до №50

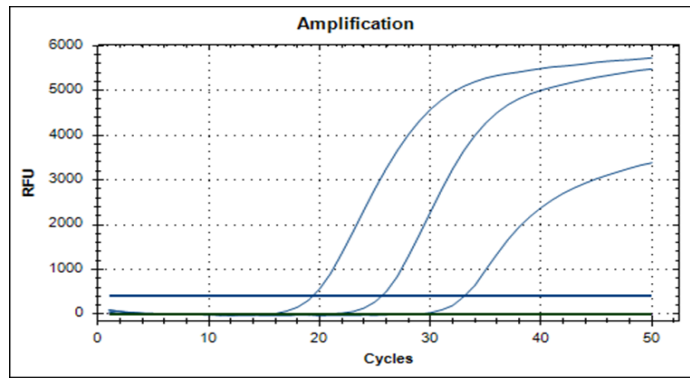


**Фиг. 74.** Отчетените флуоресцентни сигнали на вътрешните контроли на проби от №43 до №50 със флуоресцентна боя HEX. Вътрешните контроли са гаранция за качествено извършена екстракция на РНК и спазени всички температурни и времеви условия на амплификационния протокол при извършване на real-time PCR.



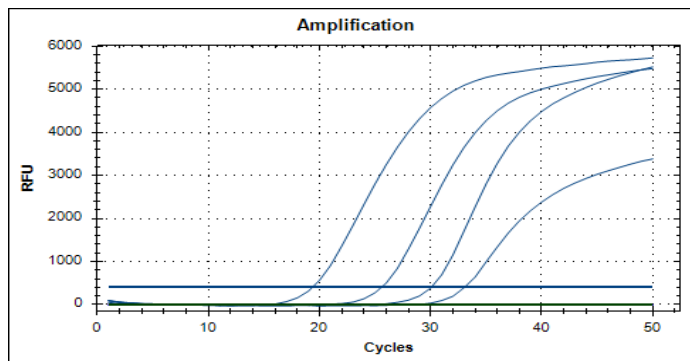
**Фиг. 75.** Отчетените флуоресцентни сигнали на положителните контроли QS1 (10 IU/μl), QS3 (10<sup>3</sup> IU/μl), QS5 (10<sup>5</sup> IU/μl) и отрицателната контрола с флуоресцентна боя FAM.

проба №43



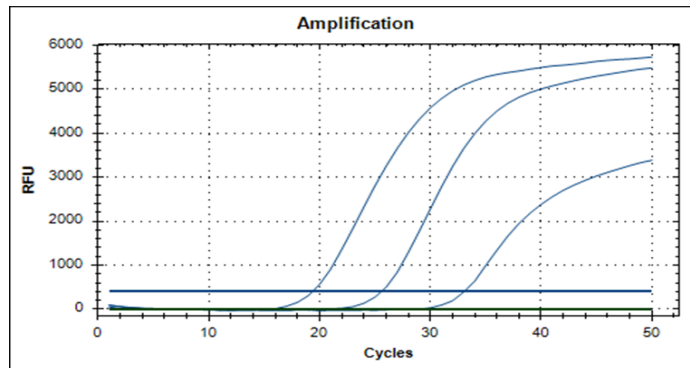
Фиг. 76. Отчетените флуоресцентни сигнали на положителните контроли QS1 (10 IU/μl), QS3 (10<sup>3</sup> IU/μl), QS5 (10<sup>5</sup> IU/μl), отрицателната контрола и проба 43, която е отрицателна и се намира под линията, показваща положителна концентрация на HCV с флуоресцентна боя FAM.

проба №44 17 243 IU/ml



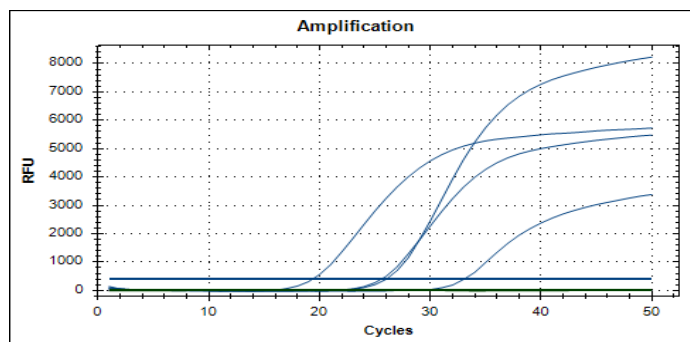
Фиг. 77. Отчетените флуоресцентни сигнали на положителните контроли QS1 (10 IU/μl), QS3 (10<sup>3</sup> IU/μl), QS5 (10<sup>5</sup> IU/μl), отрицателната контрола и проба 44, която е положителна, показваща положителна концентрация на HCV, отговарящо на 17 243 вирусни копия на ml с флуоресцентна боя FAM.

проба №45



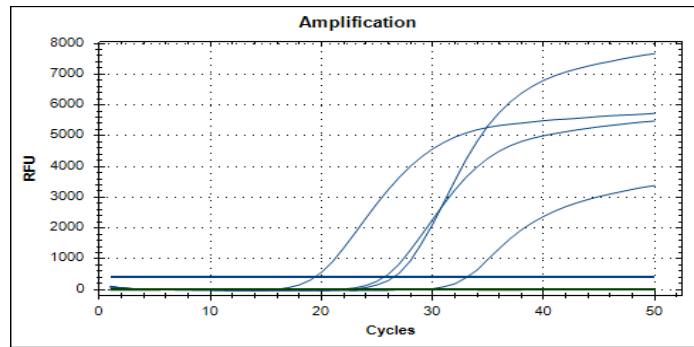
Фиг. 78. Отчетените флуоресцентни сигнали на положителните контроли QS1 (10 IU/μl), QS3 (10<sup>3</sup> IU/μl), QS5 (10<sup>5</sup> IU/μl), отрицателната контрола и проба 45, която е отрицателна и се намира под линията, показваща положителна концентрация на HCV с флуоресцентна боя FAM.

проба №46 673 720 IU/ml



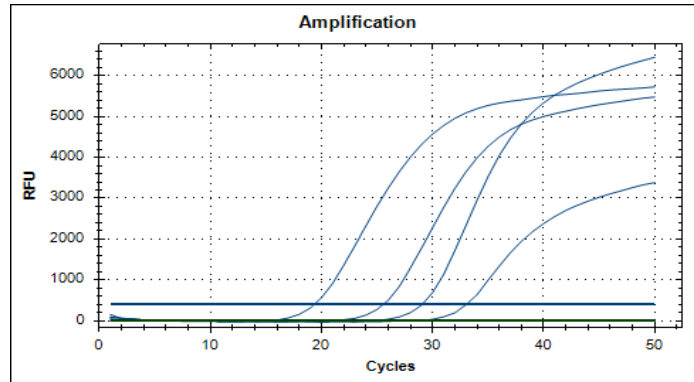
Фиг. 79. Отчетените флуоресцентни сигнали на положителните контроли QS1 (10 IU/μl), QS3 (10<sup>3</sup> IU/μl), QS5 (10<sup>5</sup> IU/μl), отрицателната контрола и проба 46, която е положителна, показваща положителна концентрация на HCV, отговарящо на 673 720 вирусни копия на ml с флуоресцентна боя FAM.

проба №47 486 860 IU/ml



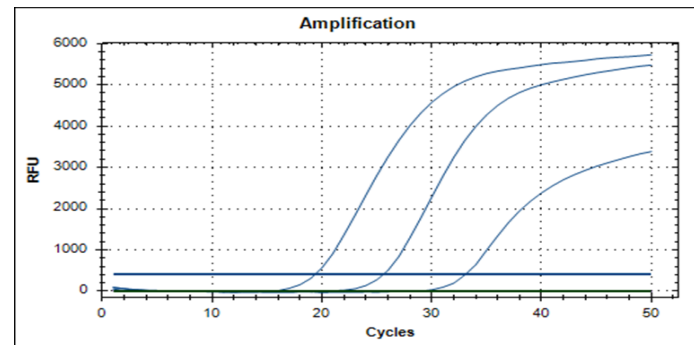
**Фиг. 80.** Отчетените флуоресцентни сигнали на положителните контроли QS1 (10 IU/μl), QS3 (10<sup>3</sup> IU/μl), QS5 (10<sup>5</sup> IU/μl), отрицателната контрола и проба 47, която е положителна, показваща положителна концентрация на HCV, отговарящо на 486 860 вирусни копия на ml с флуоресцентна боя FAM.

проба №48 48 358 IU/ml



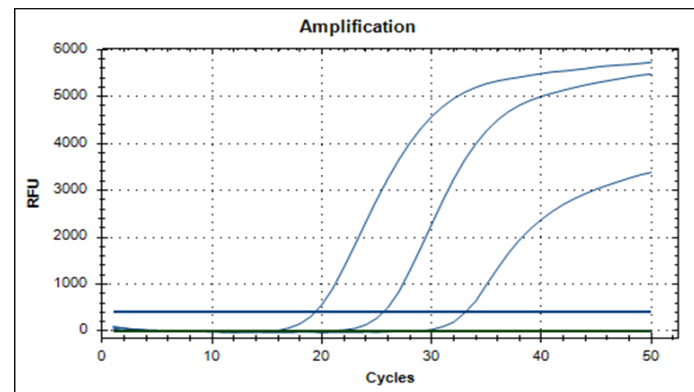
**Фиг. 81.** Отчетените флуоресцентни сигнали на положителните контроли QS1 (10 IU/μl), QS3 (10<sup>3</sup> IU/μl), QS5 (10<sup>5</sup> IU/μl), отрицателната контрола и проба 48, която е положителна, показваща положителна концентрация на HCV, отговарящо на 48 358 вирусни копия на ml с флуоресцентна боя FAM.

проба №49



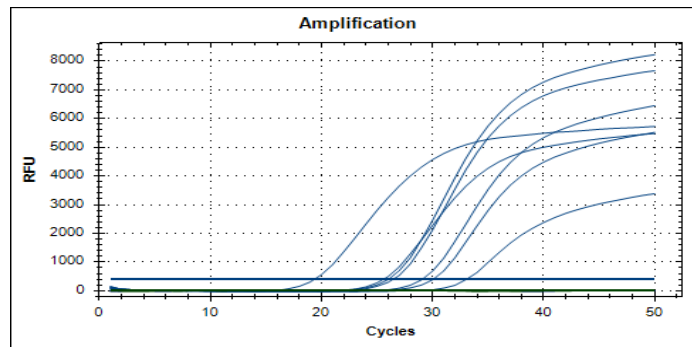
**Фиг. 82.** Отчетените флуоресцентни сигнали на положителните контроли QS1 (10 IU/μl), QS3 (10<sup>3</sup> IU/μl), QS5 (10<sup>5</sup> IU/μl), отрицателната контрола и проба 49, която е отрицателна и се намира под линията, показваща положителна концентрация на HCV с флуоресцентна боя FAM.

проба №50



**Фиг. 83.** Отчетените флуоресцентни сигнали на положителните контроли QS1 (10 IU/μl), QS3 (10<sup>3</sup> IU/μl), QS5 (10<sup>5</sup> IU/μl), отрицателната контрола и проба 50, която е отрицателна и се намира под линията, показваща положителна концентрация на HCV с флуоресцентна боя FAM.

проби от №43 до №50 общо



Фиг. 84. Отчетените флуоресцентни сигнали на положителните контроли QS1 (10 IU/μl), QS3 (10<sup>3</sup> IU/μl), QS5 (10<sup>5</sup> IU/μl), отрицателната контрола и проби от №43 до №50 с флуоресцентна боя FAM.

### Обсъждане на получените резултати

Изследвани са общо 32 бр. проби от №19 до №50, получени на два пъти: от №19 до №35 на 20.06.2018 г. и от №36 до №50 на 25.09.2018 г. По време на изследването пробите са разделени на 4 групи по 8 проби: от №19 до №26; от №27 до №34; от №35 до №42 и от №43 до №50.

Първа група от №19 до №26: подпрагови концентрации на HCV – проба №19 и проба №23; положителни надпрагови концентрации на HCV – проба №20 (48 358 IU/ml); проба №21 (193 430 IU/ml); проба №22 (386 860 IU/ml); проба №24 (24 179 IU/ml); проба №25 (49 167 IU/ml) и проба №26 (6 045 IU/ml).

Втора група от №27 до №34: подпрагови концентрации на HCV – проба №27 и проба №33; положителни надпрагови концентрации на HCV – проба №28 (56 972 IU/ml); проба №29 (182 610 IU/ml); проба №30 (45 726 IU/ml); проба №31 (35 570 IU/ml); проба №32 (371 493 IU/ml) и проба №34 (756 IU/ml).

Трета група от №35 до №42: подпрагови концентрации на HCV – проба №38 и проба №40; положителни надпрагови концентрации на HCV – проба №35 (5 793 IU/ml); проба №36 (513 IU/ml); проба №37 (683 IU/ml); проба №39 (1 123 IU/ml); проба №41 (1 345 IU/ml) и проба №42 (722 IU/ml).

Четвърта група от №43 до №50: подпрагови концентрации на HCV – проба №43, проба №45, проба №49 и проба №50; положителни надпрагови концентрации на HCV – проба №44 (17 243 IU/ml); проба №46 (673 720 IU/ml); проба №47 (486 860 IU/ml); проба №48 (48 358 IU/ml);

Общо са получени 22 положителни 10 подпрагови резултати.

### Глава VIII. Разработване и апробиране модели на епидемиологично проучване на лица с доказан ВХС от актуални рискови групи в област Плевен.

#### 1. Разработване на критерии за комплексно епидемиологично проучване на случаи с ВХС с използване на класически и молекулярно-генетични методи

##### Индивидуална информация

Инициали

ЛИЗ/АЛ/талон за направление – последна цифра от регистрационния №

Пол

Възраст

Семейно положение

Образование

Професия/занятие: (основна, изпълнявани допълнителни професионални дейности и ангажименти)

Местоживеене – държава, населено място

Етнос

##### Епидемиологична информация - от снета анамнеза

1. Рискови медицински манипулации:

- а) Трансфузия на кръв или кръвни продукти (плазма, еритроцитна маса, тромбоцитна маса) – време, кратност
- б) Претърпяни хирургически операции – вид, време на осъществяване, лечебно заведение/звено, продължителност
- в) Хемодиализа – давност, периодичност
- г) Стоматологични процедури – вид, обем, време
- д) Транспланти и импланти – вид на трансплантирания орган и на имплантите, време на операциите
- е) Други медицински процедури: ендоскопии, кръвни и инвазивни процедури, акупунктура, електромиография – време на извършване, кратност
- 2. Наличие на болен член от семейството с доказан ВХ С
- 3. Сексуално предавани инфекции, водене на диспансерен отчет в център за кожновенерични заболявания
- 4. Коинфекции с ВХ В и ХИВ, водене на диспансерен отчет в инфекциозни клиники и клиники по гастроентерология
- 5. Ко-инфекция с туберкулоза, водене на диспансерен отчет в специализирани звена за лечение на туберкулоза
- 6. Извънбрачен секс, секс с други партньори, сексуални практики, предоставяне на сексуални услуги
- 7. Хоби, свързано с потенциал за здравни рискове
- 8. Употреба на наркотици; вид и начин на приложение; честота на прилагане, продължителност
- 9. Престой в места за лишаване от свобода, арест или пребиваване в следствени звена на правосъдната система
- 10. Татуировки, пиърсинг
- 11. Участие в международни омиротворителни и хуманитарни мисии
- 12. Превиване в други страни по други професионални причини или туризъм и рискови дейности или медицински манипулации по спешност, провеждани извън страната по време на работа или туризъм
- 13. Бременност/раждане, оставено дете в дом за медикосоциални грижи
- 14. Социален статус и принадлежност към групи с общи интереси
- 15. Контактни лица в семейството и обкръжението

**Клинико-лабораторни данни – от анамнеза, от амбулаторен лист, от ИЗ, от епикриза при изписване след хоспитализация в лечебно заведение или от лабораторна документация**

- 1. Начало на заболяването ВХ С – забелязани първи симптоми
- 2. Доказване на заболяването ВХ С – време, лечебно заведение, диагностични тестове
- 3. Протичане на заболяването ВХ С – остро, хронично или доказано само заразноносителство; тежест и късни усложнения (цироза, ХЦК, други усложнения), периоди на обостряне
- 4. Хоспитализация и провеждано лечение по повод ВХ С – лечебни заведения, болнични структури
- 5. Консултации с други медицински специалисти и контролни прегледи по повод ВХ С
- 6. Резултати от последни изследвания: anti-HCV (ELISA), PCR (качествен и количествен вариант)
- 7. Резултати от проведени последни прегледи и изследвания по повод сексуално преносими инфекции и коинфекции ВХ В, ХИВ и туберкулоза; резултати от други лабораторни анализи
- 8. Други придружаващи заболявания, имащи връзка с възникване на основното заболяване ВХ С – време на поява, протичане (ремисии, обостряне); хоспитализации в други клиники и отделения освен инфекциозни и гастроентерологични, свързани с придружаващо заболяване (посочват се болничните структури, където са провеждани хоспитализациите)

9. Други заболявания, без видима връзка с инфекцията ВХ С – време на поява, хоспитализация в болнични структури, прием за диагностично уточняване, извършвани инвазивни диагностични манипулации по повод диспансеризация и контролни прегледи

## **2. Представяне на модел на епидемиологично проучване на болни и носители сред групата получавали кръв и кръвни продукти**

Проведено е ретроспективно епидемиологично проучване на двама пациента с основна диагноза Хемофилия – Вроден дефицит на фактор VIII, и придружаващо заболяване ВХ С. Пациентите са на възраст 39 и 32 години. Планово са хоспитализирани в Клиника по хематология през 2017-2018 г. за лабораторни изследвания и изготвяне на протокол за получаване на медикаменти за амбулаторно лечение. Регистрирани са в националната информационна система като „потвърдени случаи на ВХ С“ съгласно Наредба 21 на МЗ от 2006 г. относно „Ред за регистрация, съобщаване и отчет на заразните болести“ след откриване по време на предишни хоспитализации. Лабораторното потвърждаване при откриване е извършено по критерий „Доказване на специфичен анти тяло отговор срещу HCV чрез тест за анти тяло“ по ELISA, кит Dia.Pro Diagnostic Bioprobes HCV Ab.

Впоследствие, след дехоспитализацията, за целите на епидемиологично проучване е извършено изследване за вирусен товар и генотипиране на HCV по методичната постановка „Полимеразно-верижна реакция“ в реално време (Real Time Polymerase Change Reaction, RT-PCR). Първата стъпка на RT-PCR – амплификация на вируса установява достигнато ли е минимално ниво на вирусна концентрация, позволяващо количествено определяне на вирусните копия в 1 мл кръв. При стойности под това ниво резултатът е отрицателен. На практика това означава, че вирусната е минимална и не може да се премине към следващата стъпка – определяне на наличните вирусни копия. Границата на критичното ниво за количествено определяне на HCV варира за различните диагностични китове, внедрени за рутинна употреба. Използваният в нашето проучване диагностичен набор открива вирусна концентрация над 1 000 копия в мл.

В хода на цялостното проучване е приложен комплексен епидемиологичен подход, включващ: а) набиране на информация от архивирана болнична документация на хоспитализираните болни (ЛИЗ и лабораторен журнал), б) преглед на клиничния статус и параклинични показатели (клинико-лабораторен метод), в) изследване на кръвни проби по методиката RT-PCR за съставяне на генетичен профил, включващ вирусен товар и генотипиране на причинителя (молекулярно-генетичен метод), г) описание на систематизираната информация (описателен метод) и д) обобщение на данните и епидемиологичен анализ по принципите за медицина базирана на доказателства (аналитичен метод). При изясняване на осъществени в миналото или възможни бъдещи експозиции на пациентите с материи, съдържащи биопатогена, е търсена информация за принадлежност към възприетите за ВХ С рискови групи.

### **Получени резултати**

#### **Пациент N 1**

Мъж на възраст 39 години с диагностицирана хемофилия при раждане. Заведен е на отчет с диагноза ВХ С – заразноносител от 2011 година, през 2017 инфекцията е потвърдена с позитивен тест по ELISA 5,06 единици (референтна стойност < 0,9). Приеман е над 30 пъти в клиниката по хематология, след 90-те години основно за оформяне на протоколи за лекарства. Средният болничен престой при отделните хоспитализации е от 2 до 4 дни. Хематологичното заболяване протича тежко, с масивни кръвоизливи в коленните и лакътните стави. Нивото на фактор VIII след 2011 г. е 0,5 %. Последната година хеморагиите настъпват 1 до 2 пъти месечно. При хоспитализацията през 2017 г. е описана и трудно зарастваща рана с белези на хронично кървене. Кръвната картина и биохимичните показатели не показват отклонения. Резултат от RT-PCR: отрицателен HCV RNA тест – неоткриваем вирусен товар; идентифициран 1b субгенотип на HCV.

#### **Пациент N 2**

Мъж на възраст 32 години. Диагностицирана хемофилия на 8 месечна възраст. Открит хроничен ВХ С през 2000 година, през 2017 г. и 2018 г. инфекцията е потвърдена с позитивен тест по ELISA съответно 1,43 и 3,37 единици. Хематологичното заболяване протича тежко, с



кръвоизливи в лакътните и дясната колянна става, довели до силно ограничаване на подвижността. Рентгенологично са установени остеохондрит, анкилоза и остеопороза. Последно изследване на фактор VIII от 2013 г. – 0,3 %. Последните 6 месеца хеморагиите настъпват 1 път седмично. При хоспитализацията през 2017 г. са описани деформиращи хемартрози и куцаща походка. Пациентът е с намалена работоспособност и е трудоустроен. Последните 18 години редовно е приеман всяка година два пъти в клиниката с престой от по няколко дни за оформяне на протокол за НЗОК, преди този период също е приеман многократно. Отрицателен HCV РНК тест и неопределен вирусен товар. Идентифициран 1b субгенотип на ВХ С.

### **Обсъждане**

Разгледан в най-общ клинично-терапевтичен аспект, в острата си фаза ВХ С е предмет на специалистите инфекционисти, а при хронифициране – на гастроентеролозите. Поради факта, че съотношението на хроничните към остропротичащите форми е силно изместено към първия тип – приблизително 80 % срещу 20 %, подчертано преобладаваща част от новооткритите случаи се насочва от общопрактикуващите лекари към кабинети по гастроентерология. Във връзка с това, хоспитализацията на лицата с диагноза ВХ С се осъществява основно в гастроентерологични клиники и отделения или в специализирани хепатологични звена. В инфекциозните клиники и отделения се настаняват случаи с остра инфекция за първоначално доказване на диагнозата и при рецидив или коинфекция (с HBV, HIV или други причинители). Безсимптомните вирусноносителите заемат значителен дял от всички източници на инфекция, поради което случаи на ВХ С са откривани в други звена на лечебните заведения сред пациенти, приети по повод най-различни заболявания. В докладите за вътреболнично превеждане на стационарни пациенти, хематологичните клиники и отделения са посочвани повече по този специфичен показател, в сравнение с останалите болнични структури.

Причините за настаняване на болни с ВХ С в хематологични звена могат да се обяснят с особеностите в патогенезата на инфекцията. Има се предвид, че освен хепатотропизъм, HCV проявява и екстрахепатална локализация.

Определено внимание заслужава въпросът за връзката на ВХ С със заболявания, терапията на които включва вливане на кръвни съставки. Хемофилията заема водеща позиция в групата. До 1992 г., когато е започнало въвеждане на теста за задължително скриниране на донорската кръв за HCV, глобалният обхват на инфекцията сред хемофилиците е достигал 90 %. В България пациентите с хемофилия и носителство на HCV в този период достигат 75 %. След 1997 г., когато скрининга на кръвните продукти за този биопатоген е въведен като задължителен в страната, появата на заразявания по такъв начин при нашите условия е казуистика. Ако се установят, заразяването сигурно е с голяма давност.

Епидемиологичната теория разглежда инфекциозния риск като опасност за заразяване на отделния индивид, а епидемичният риск се свързва с поддържане на траен резервоар в човешкото общество, който застрашава множество индивиди. Инфекциозният риск зависи от съчетаното проявление на два фактора: количеството на биопатогена в 1 мл кръв (биологичен фактор) и честотата на инцидентите с риск от заразяване (социален фактор). Епидемичният риск също се обуславя от биологични и социални фактори. В конкретния случай втората група – социалните практики е доминираща. На тази база са обособени специфични групи от населението с по-висок риск за ВХ С. Общоприета е следната класификация:

1. Употребяващи наркотици чрез инжектиране и инхалиране
2. Практикуващи нетрадиционен секс или секс с множество партньори
3. Професионално ангажирани лица
4. Хемодиализирани болни
5. Лица, на които е правено кръвопреливане, вливани са кръвни съставки или са трансплантирани органи
6. Пациенти с извършени медицински и немедицински манипулации, характеризирани се с потенциал за активиране на кръвен път на предаване на биопатогени
7. Лица, изтърпявали наказание в места за лишаване от свобода или намиращи се в момента в такива институции

Експертите на Американската асоциация за чернодробни заболявания предлагат по-разширен списък на рисковите популации. В препоръката им от 2018 г. за еднократно тестване освен изложените по-горе категории, са добавени следните групи:

1. Хора, родени между 1945 г. и 1965 г. (независимо от страната на раждане);
2. Хора, с перкутанна / парентерална експозиция в нерегламентирана обстановка;
3. Пациенти на които е правена трансфузия на кръв, кръвни съставки или органна трансплантация преди м. юли 1992 г, които са получавали фактор на кръвосъсирване преди 1987 г., или са били уведомени, че са получили кръв от донор, който се е оказал положителен за HCV.
4. Хора, които са били задържани в полицията
5. Хора, живеещи с ХИВ инфекция
6. Хора с необяснима хронична чернодробна болест и хроничен хепатит
7. Бежанци – при влизане в страната.

Възможно е някои индивиди да бъдат под въздействие на повече от един рисков фактор, респективно – да отговарят на повече от един критерий за групова диференциация. Това води до припокриване на основни групи. Поддредането на групите по степен на обществена значимост е специфично в различните етноси и географски региони.

### **Статус на проучваните болни в контекста на класическата, молекулярната и пространствената епидемиология**

Определянето на вирусния товар и генотипирането по същество са нови елементи в епидемиологичното проучване, реализирани чрез молекулярно-генетични методики. Вирусният товар, изразяван в броя вирусни копия в 1 мл кръв, отразява инфекциозния потенциал на заразения. Проучването на епидемичните ситуации от ВХ С е невъзможно без изясняване генетиката на причинителя, защото този биопатоген се представя със 7 основни типа, в които са организирани 67 подтипа и други десетки квазитипове (временни варианти, възникващи в хода на инфекциозния процес). Информацията по генетични маркери е важна за пространствената епидемиология – съвременната парадигма в инфекциозната епидемиология. Това е едно ново направление, което допълва класическата епидемиология и разглежда епидемичния процес като функция от сложно взаимодействие на биологични (в т.ч. и генетични), еколого-географски (териториални), еволюционни и социални фактори.

Информацията от анамнезата и социално-демографския профил на двамата болни с диагноза хемофилия показва, че те могат да бъдат отнесени към рисковата група лица, на които са вливани биопродукти. Аргументът е, че са получавали кръвосъсирващ фактор VIII продължително време преди скрининга на кръвта за HCV, който в нашата страна започва да се провежда от 1997 г. Невъзможността да се откриват и отстраняват донори, носители на HCV преди това време е създавала реални предпоставки за ефективен пренос на биопатогена чрез кръвни продукти. Откриването на ВХ С при пациентите след 2000 г. дава основание да се приеме хипотезата, че заразяванията при тях са настъпили съответно преди 19, респективно 12 годишна възраст, преди въвеждането на теста. Причината за заразяване се предполага че е свързана с производствената технологията на медикаментите за специфично лечение на хемофилия от 70-те и 80-те години.

При оценяване опасността двамата болни да бъдат източници на инфекция, застрашаващи други индивиди, се имат предвид следните съображения: а) формата на проявление и тежестта на протичане на инфекцията, за която добиваме представа чрез обективното състояние, параклиниката и вирусния товар, и б) настоящи и възможни бъдещи рискови дейности и кръвни манипулации, свързани с пациентите.

По първия пункт – касае се за носителство на ВХ С, без отклонения на основните чернодробни показатели. Възможностите на използвания кит за RT-PCR засичат количеството над 1 000 вирусни копия в мл ( $10^3$ ), а вирусният товар и при двамата е отрицателен, т.е. под критичното ниво  $10^3$  и не може да бъде определен. Това, заедно с останалите клинично-лабораторни индикатори означава, че вирусната репликация протича с изключително ниски темпове. Възприетата в САЩ работна четиристепенна класификация на инфекционистите поставя стойностите до 1 000 000 вируса в мл (т.е.  $< 10^6$ ) в първа степен – ниско ниво. Най-тежко протичащ инфекциозен процес, с над 25 000 000 вируса в 1 мл (т.е.  $> 25 \times 10^6$ ) във фаза плато при

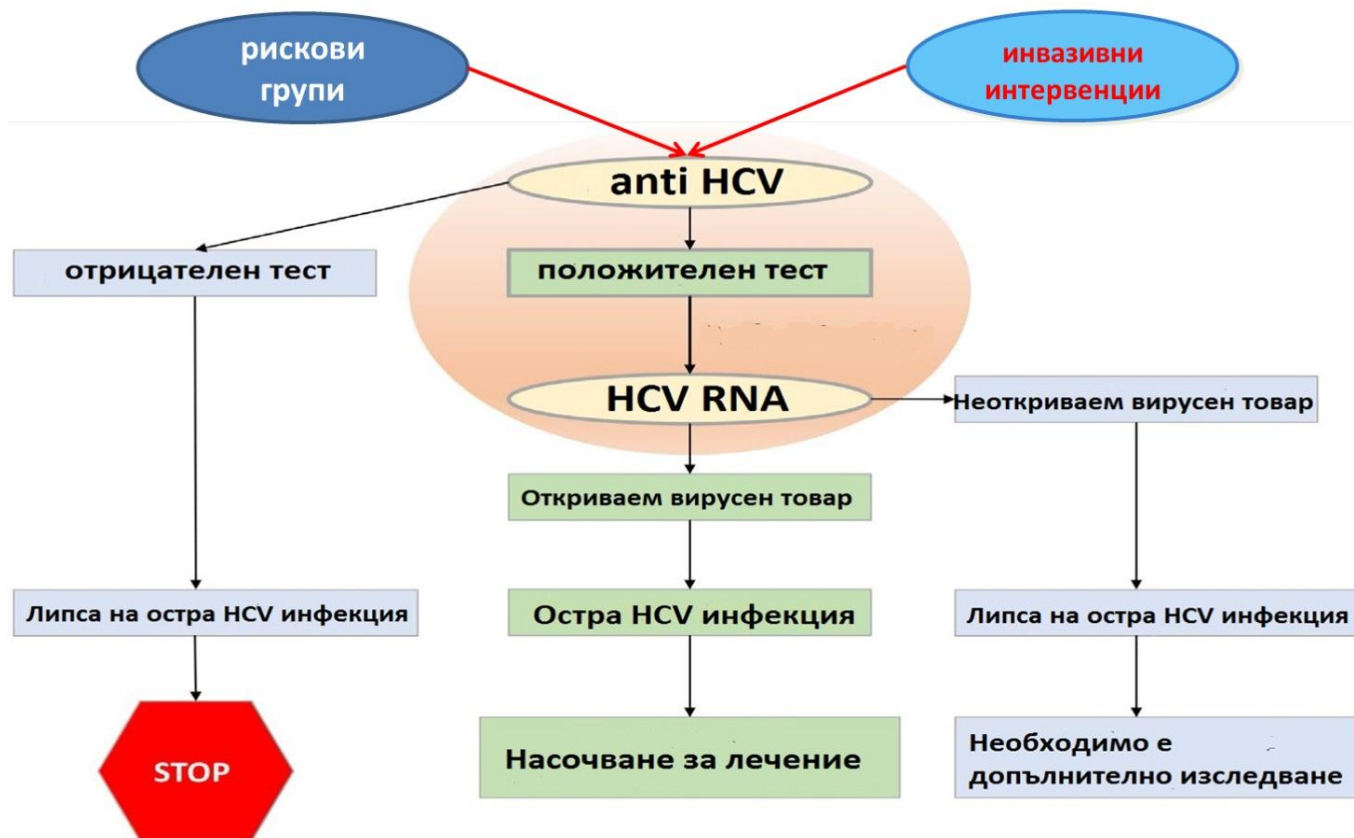
острата форма (достигане на максимална вирусна концентрация и няколкомесечно задържане), е четвърто ниво. От вирусологична, патогенетична и клинична гледни точки, оценяваме протичането на инфекцията при двамата пациента като сравнително лека степен. Твърдението за ниска активност на инфекциозния процес може да бъде допълнително аргументирано и с липсата на раздвижени кръвни показатели; например – няма данни за тромбоцитопения, при положение, че има достатъчно информация за такива промени в тромбоцитите при затегнато протичаща инфекция с HCV.

По втория пункт ние установихме, че освен като бивши реципиенти на кръвни съставки, пациентите не се причисляват към никоя от останалите рискови групи. От друга страна, здравословното им състояние вероятно ще налага нови хоспитализации в бъдеще. Приемането им ще става основно в Клиника по хематология с цел контрол на основното заболяване и оформяне на документация за медикаменти за амбулаторно лечение, но също така, поради усложнения, е възможно и приемане в болнични звена по други специалности. Прогресиращите ставни увреждания са индикации за това. В тази насока възниква въпроса за епидемичния потенциал на пациентите относно ВБИ, конкретно – създаване на опасности за заразяване на медицински персонал. Разбирането за епидемиологично значима вирусемия, дължаща се на HCV, днес се базира на критерия доказан позитивен РНК тест с установяване на вирусния товар. При отрицателен резултат, какъвто се е получил за двамата пациенти, реалният риск от инфектиране на медицински служител след убождане при извършване на рутинни кръвни манипулации се оценява като неголям. Принципно, опасността от контаминиране на раничка с кръв, съдържаща HCV, в изпълнение на обичайни амбулаторни и болнични процедури се оценява от 1,8 % до 3 % при максималното ниво на вирусемия – над  $25 \times 10^6$  ( $>25\,000\,000$  cop/ml). По-голям риск за персонал (до 6 %) е възможен при сериозни хирургически операции със силно изразено кървене от пациента и по-дълбоко нараняване. В конкретния случай вирусният товар е многократно по-нисък от границата за първо ниво. Следователно и рискът ще бъде значително по-нисък от 1,8 %. Ако разглеждаме обаче риска по отношение честота на приемане в болница, многократният прием на тези лица в известна степен го увеличава. Установеният генетичен вариант 1b е доминиращ в нашата страна. Относителния дял на този субгенотип сред хемолитици в проучване на П. Теохаров от средата на 90-те е определен на 67 %, а в групата на кръвни донори е открит в 86 %. При хемофилиците е доказана също и смесена инфекция 1b + 2a в 22 %.

Като имаме предвид тези данни и социално-демографската характеристика на проучените от нас двама пациента с ВХС, приемаме хипотезата за автохтонна поява на случаите.

### **Глава IX. Оптимизиране на епидемиологичния контрол при ВХС чрез разработване на алгоритъм с приложение на социално-демографски показатели и генетични маркери в епидемиологичните проучвания.**

Направените проучвания в рамките на настоящия труд ни позволяват да подчертаем важното епидемиологично значение за придобиване на ВХС на две основни категории – индивиди, принадлежащи към рискови групи и такива, подлежащи на инвазивни интервенции. Особено за втората категория е важно да се въведе задължително изследване за наличие на антитела срещу HCV преди извършване на интервенцията, което ще има директно отражение върху намаляване на риска от вътреболнични инфекции. Същевременно ранното диагностициране на конкретен случай ще даде възможност за своевременно насочване към конкретни специалисти-клиницисти (гастроентеролози, инфекционисти) с оглед адекватен терапевтичен подход.



Фиг. 85. Алгоритъм за ранна диагноза на вирусен хепатит С

## Глава IX. Изводи

1. Заболяемостта от ВХ С в България за периода 2008-2021 г. е в диапазона 0,63 – 1,30 на 100 000 население. В края на периода се наблюдава тенденция към намаляване. Стойността на показателя оценяваме като положителен, но най-вероятно неотговарящ на действителния поради негативното влияние на пандемията от COVID-19 – фокусиране на здравните дейности върху това заболяване и оставяне на заден план на почти всички други заболявания – хронични, онкологични и др.
2. Заболяемостта от ВХ С в област Плевен за периода 2008-2021 г. е в диапазона 0,38 – 3,8 на 100 000 население. Регистрат се години със заболяемост, по-висока от средната за страната. Оценяваме показателя като негативен за разпространението на ВХ С в област Плевен.
3. Лабораторно потвърдени случаи на ВХ С се регистрират с по-голяма честота при лица от мъжки пол – 69,81% в сравнение с тези от женски пол – 30,19%.
4. Установена е достоверна разлика във възрастовото разпределение в зависимост от пола – при мъже най-уязвимите възрастови групи са 20-29 г. и 40-49 г. При жени преобладаващата възрастова група е 70-79 г.
5. Най-голям дял от хоспитализирани болни се установява във възрастова група 60-69 г. независимо от пола. Основна причина за това е коморбидитета при възрастните пациенти.
6. Водещи са хоспитализациите на болни с диагноза ВХ С в клиники по гастроентерология, инфекциозни болести и хематология.
7. Преобладават хоспитализации на лица с хроничен ВХ С, предимно градско население от мъжки пол.
8. Оперативни интервенции и инвазивни манипулации са сред водещите рискови фактори за вероятна експозиция с HCV.
9. Давността на заболяването е трудна за определяне поради откриването му по-често в хроничен стадий и поради преобладаващи леки до средно тежки клинични форми, определени от клинично-лабораторния профил на хоспитализираните. Допълнително утежняващ откриваемостта е фактът, че значителен дял от случаите (над 50 %) протичат безсимптомно.
10. Клиничните симптоми, корелиращи с тежестта на протичане са тежестта в корема (значителна корелация) и отпадналостта (умерена корелация).
11. Сред донори на кръв, позитивни за анти-HCV антитела преобладават мъже във възрастова група 25-34 г. Молекулярно-генетичният анализ при тях показва субгенотип 1b.
12. В половината от изследваните проби се установява вирусен товар над праговата концентрация.
13. Клиниките и отделенията по хемодиализа и хематология запазват ролята си на водещи структури по отношение на регистрация на случаи на ВХ С.
14. Относно тежестта на протичане и вирусния товар при изследваните пациенти липсата на рандомизирано проспективно проучване не ни дава основание да отчитаме наличие или липса на корелация между тях. Това не означава, че няма такава, но ние не разполагаме със съответни аргументи в тази насока.

15. Установена е по-голямата продължителност на хемодиализата като рисков фактор за HCV, което разкрива ролята на нозокомиалната трансмисия на вируса и показва необходимостта от непрекъснато поддържане въведените стриктни мерки за инфекциозен контрол в диализната клиника, в това число изолиране на позитивните пациенти.

### **Заключение**

Регистрираните случаи на ВХ С в България от първоначално установените (1991 г.) до момента запазват ролята на страната ни по отношение на заболяването в зона на ниско разпространение. В проведеното комплексно проучване се потвърдиха някои известни до момента особености на заболяването в епидемиологично и клинично отношение: най-разпространеният (единствен) за нашето проучване субгенотип 1b; вирусът се открива по-често при лица от мъжки пол в по-млада възраст, под влияние на социални и рискови фактори; сред клинично изявените случаи на ВХ С преобладават хроничните клинични форми с лека и умерена тежест на протичане на заболяването.

Ранното откриване на инфектирани с HCV лица е възможно при комплексно прилагане на класически и съвременни методи за диагностика, което ще гарантира адекватен епидемиологичен надзор и контрол на заболяването. Наличието на множество рискови групи сред населението следва да „повиши“ чувствителността на здравната система към заболяването.

## **Приноси**

### **ОРИГИНАЛНИ ПРИНОСИ**

#### **Оригинални приноси за страната:**

1. Проведено е комплексно епидемиологично, социално-демографско, клиничко-лабораторно и вирусологично проучване на популационни извадки с доказан ВХ С.
2. Разработен и апробиран е модел на епидемиологично проучване на лица с доказан ВХ С от актуални рискови групи в област Плевен.
3. Разработени са критерии за комплексно епидемиологично проучване на случаи с ВХ С с използване на класически и молекулярно-генетични методи
4. Създаден е алгоритъм за ранна диагноза на ВХ С.

### **ПРИНОСИ С ПОТВЪРДИТЕЛЕН И НАУЧНО-ПРИЛОЖЕН ХАРАКТЕР**

1. Потвърждава се важното епидемиологично значение на рисковите групи.
2. Потвърждава се липсата на специфични симптоми и синдроми, подсказващи наличие на ВХ С.
3. Потвърждава се подмолното протичане на заболяването – в настоящото проучване 53 % от пациентите са без клинични симптоми, суспектни за хепатит.
4. Насочващи към правилната диагноза са главно данни от епидемиологичното проучване.
5. Чернодробно-биохимични показатели – налице е леко до умерено повишена аминотрансферазна активност. Останалите рутинни лабораторни показатели нямат специфична за ВХ С диагностична стойност.
6. Определен е генотип и вирусен товар на HCV на случаи, принадлежащи към различни рискови групи.
7. Изследването на генотипа на HCV установява наличие на субгенотип 1b във всички положителни проби.

## ПУБЛИКАЦИИ, СВЪРЗАНИ С ТЕМАТА НА ДИСЕРТАЦИЯТА

### с участието на д-р Калина Димитрова Терзиева

1. Kalina Terzieva, Metody Kunchev, Hristina Hitkova, Tzetzta Doichinova, Tanya Petkova, Krasimir Mekoushinov, Dimitar Shalamanov. **MOLECULAR-GENETIC INDICATORS AS PART OF AN EPIDEMIOLOGIC STUDY ON PATIENTS WITH VIRUS HEPATITIS C.** C. R. Acad. Bulg. Sci., 74, No 4, 2021, 594-601.
2. К. Терзиева, И. Попиванов, Ц. Дойчинова, В. Дойчева, Д. Шаламанов Епидемиологична характеристика на рисковите групи при вирусен хепатит С. *Обща медицина*, 2017, 3, 57-66
3. К. Терзиева, В. Цинцарска, М. Кунчев, Ц. Дойчинова, Хр. Хиткова, Т. Петкова, В. Дойчева, Д. Шаламанов. Модел на епидемиологично проучване при вирусен хепатит С – литературен преглед и представяне на случаи с основно хематологично заболяване - *Обща медицина*, 21, 2019, №2, 30-35.
4. К. Терзиева, Д. Шаламанов, М. Кунчев, В. Дойчева, Мекушинов К. Молекулна епидемиология на вирусен хепатит С. *Български медицински журнал*, 2017, XI, 3, 14-19

### УЧАСТИЯ В НАУЧНИ ФОРУМИ ПО ТЕМАТА НА ДИСЕРТАЦИЯТА :

1. Паков И, Добрев Р, Терзиева К, Попиванов И, Шаламанов Д, Дойчинова Ц. Рискове за пренос на хепатитни вируси при ендоскопски процедури. Доклад, Шеста национална конференция на Южнобългарско дружество по инфекциозни болести, епидемиология и паразитология, Цигов чарк, 1-3.06.2018