

Małgorzata Aniszewska, Barbara Kowalik-Mikołajewska, Maria Pokorska-Śpiewak, Magdalena Marczyńska.

BADANIE PRZECIWCIAŁ ANTY-HCV JAKO PODSTAWOWY STANDARD MONITOROWANIA ZAKAŻENIA ODMATCZYNEGO HCV: ZALETY I WADY METODY

ANTI-HCV TESTING AS A BASIC STANDARD OF MONITORING HCV MOTHER-TO-CHILD INFECTION: ADVANTAGES AND DISADVANTAGES OF THE METHOD

Klinika Chorób Zakaźnych Wieków Dziecięcego Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego
Oddział XI, Wojewódzki Szpital Zakaźny w Warszawie

STRESZCZENIE

Transmisja wertykalna jest ważną drogą zakażenia HCV dzieci. Zakażenie rozpoznaje się na podstawie dwukrotnego wykrycia HCV-RNA w 1 r.ż lub/i przeciwciał anty-HCV powyżej >18 m-ca ż. Badanie HCV-RNA RT-PCR powinno być wykonane w wysokospecjalistycznym laboratorium posiadającym odpowiednie certyfikaty. Komercyjne testy ELISA anty-HCV są tańsze i dostępne bez ograniczeń. **Cel:** Ocena przydatności badania przeciwciał anty-HCV powyżej 18 m-ca ż. do diagnostyki zakażenia wertykalnego HCV.

METODY: Opieką objęto 317 dzieci matek zakażonych HCV, czas obserwacji 2-4 lata. HCV-RNA oznaczano w 2-5 m-cu ż, następnie co 6 m-cy; anty-HCV co 3-6 m-cy.

WYNIKI: Zakażenie HCV (na podstawie 2x HCV RNA+) rozpoznano u 26/317 (8,2%) dzieci. Anty-HCV+ stwierdzono u: 288 (91%) w 3-6 m-cu życia, 213 (67,2%) w 7-9 m-cu, 21(6,6%) powyżej 18 m-ca. W grupie anty-HCV- we wszystkich oznaczeniach w 1 r.ż. u żadnego dziecka nie wykryto HCV-RNA. Wśród 21 dzieci anty-HCV+ powyżej 18 m-ca ż: 18 było przewlekłe zakażonych (HCV-RNA+, anty-HCV+), 3 osiągnęło eliminację HCV-RNA (w tym 2 stało się anty-HCV-, 1 pozostało anty-HCV+). W grupie 296 dzieci anty-HCV- powyżej 18 m-ca ż. było 5 u których wykryto HCV-RNA 2x w 1 r.ż. i wyeliminowały HCV-RNA w ciągu dalszej obserwacji. U 4 (4/296, 1,3%) z nich powyżej 18 m-ca ż. przejściowo uzyskiwano wynik: anty-HCV-, HCV-RNA+.

WNIOSKI: Wykrycie przeciwciał anty-HCV u dziecka urodzonego przez matkę zakażoną HCV: a) poniżej 18 m-ca ż. nie świadczy o jego zakażeniu. b) po 18 m-cu ż. pozwala rozpoznać zakażenie HCV (choć nie zawsze z aktywną replikacją). W większości przypadków brak anty-HCV powyżej 18 m-ca ż. jest jednoznaczny z wykluczeniem replikacji, jednak w 1,3% przypadków stwierdzono obecność HCV-RNA w surowicy krwi dzieci. Badanie anty-HCV powyżej 18

ABSTRACT

Vertical transmission is an important route of HCV infection. Infants are considered to be infected if two or more HCV-RNA results are positive and/or anti-HCV+ over 18 mo of age. HCV-RNA RT-PCR testing requires high quality certificated centers. Anti-HCV ELISA commercial tests are cheaper and may be performed in all laboratories.

AIM: to estimate sufficiency of anti-HCV testing over 18 mo in the diagnostic process of HCV mother-to-child infection.

METHODS: 317 children born to HCV infected mothers were observed for 2-4 years. HCV-RNA was determined first at the age of 2-5 mo and subsequent in 6 months intervals, anti-HCV every 3-6 months.

RESULTS: HCV infection (HCV-RNA twice presence) was recognized in 26/317(8.2%). Anti-HCV+ were found in: 288 (91%) children in 3-6 mo of age, 213(67.2%) in 7-9 mo, 21(6.6%) above 18 mo. HCV-RNA was negative during all observation in the group with anti-HCV- results group in all determinations in the first year of life. Among 21 children anti-HCV+ over 18 mo there were: 18 with chronic infection (HCV-RNA+, anti-HCV+), 3 achieved HCV-RNA clearance (2 became anti-HCV-, 1 anti-HCV+ during following observation). Among 296 children anti-HCV- over 18 mo there were 5 children HCV-RNA+ twice in the first year of life, but all became HCV-RNA- during follow up. In 4 of them (4/296, 1.3%) in spite of anti-HCV- we transiently found HCV-RNA+ above 18 mo of age.

CONCLUSIONS: Anti-HCV presence in children born to HCV infected mothers: a) up to 18 mo of age do not confirm HCV infection. b) over 18 mo of age are indicative of HCV infection, but not always with active HCV replication. Negative results of anti-HCV above 18 mo of age usually allow us to exclude HCV replication, but in 1,3% we found HCV-RNA in anti-HCV- children. Anti-HCV testing over 18 mo of age as only diagnostic procedure may be not enough. Missing

m-ca ż. jako jedyne badanie diagnostyczne może nie być wystarczające do wykluczenia zakażenia wertykalnego HCV. Rezygnacja z diagnostyki w 1rż uniemożliwi obserwację dzieci z mikroreplikacją HCV.

Słowa kluczowe: *HCV, zakażenie wertykalne, dzieci, anti-HCV, HCV-RNA, testy diagnostyczne*

HCV replication in the first period of life prevents HCV microreplication follow up.

Key words: *HCV, vertical infection, children, anti-HCV, HCV-RNA, diagnostic tests*

WSTĘP

Transmisja wertykalna (odmatczyna) jest uważana obecnie za jedną z głównych dróg zakażenia HCV dzieci. Szacuje się, że w populacji europejskiej <1% - 2,5% kobiet w wieku rozrodczym jest zakażonych HCV (1). Badanie pilotażowe przeprowadzone w Polsce wśród kobiet ciężarnych województwa mazowieckiego wykazało obecność przeciwciał anti-HCV u 2,02% z nich (2). Do zakażenia wertykalnego HCV może dojść zarówno w czasie ciąży jak i podczas porodu. Karmienie piersią nie zwiększa ryzyka zakażenia HCV dziecka. Częstość zakażenia dzieci drogą wertykalną od matek anti-HCV(+) oceniana jest na 3-10%, w badaniu EPHN (*European Paediatric Hepatitis C Virus Network*) obejmującym 1479 par matka/dziecko: 6,2% (3).

Podstawowym badaniem mającym zastosowanie w diagnostyce zakażenia HCV jest test ELISA wykrywający obecność przeciwciał anti-HCV. Wykorzystanie tego testu w diagnostyce zakażenia wertykalnego jest utrudnione ze względu na matczyne przeciwciała anti-HCV biernie przechodzące przez łożysko do organizmu dziecka. Obecność przeciwciał matczynych we krwi dziecka nie ma związku z transmisją wirusa. W większości zanikają one przed 12 m-cem życia, jednak w pojedynczych przypadkach mogą być wykrywalne do 18 m-ca (3).

Zgodnie z wytycznymi EPHN, zakażenie wertykalne HCV rozpoznaje się na podstawie dwukrotnego wykrycia HCV-RNA metodą RT-PCR w 1 roku życia lub/i stwierdzenia obecności przeciwciał anti-HCV powyżej 18 m-ca życia dzieci (1,3). Badanie HCV-RNA metodą RT-PCR może być przeprowadzone jedynie

w ośrodkach referencyjnych, posiadających odpowiednie certyfikaty. Badanie anti-HCV jest wykonywane w większości laboratoriów diagnostycznych za pomocą komercyjnych testów ELISA 3 generacji i wiąże się z niższymi kosztami.

Rekomendacje EPHN dają dowolność wyboru metod potwierdzenia/wykluczenia zakażenia wertykalnego HCV. Jeżeli obie metody są równie skuteczne i można je stosować wymiennie, postępowaniem z wyboru wydaje się być rezygnacja z oznaczania HCV-RNA i ograniczenie diagnostyki do badania przeciwciał anti-HCV. Ta metoda wiąże się z jednorazowym pobraniem krwi dziecka. Przemawiają za nią także względy finansowe. W tabeli 1 zestawiono zalety i wady realizacji obu procedur.

Celem pracy była ocena przydatności badania przeciwciał anti-HCV do diagnostyki zakażenia wertykalnego HCV.

MATERIAŁ I METODY

W latach 1998 – 2009 w Klinice Chorób Zakaźnych Wiek Dziecięcego WUM przeprowadzono diagnostykę zakażenia HCV u 317 niemowląt urodzonych przez matki zakażone HCV (HCV-RNA+ lub/i anti-HCV+). Informację o możliwości wykonania badań diagnostycznych u dzieci przekazywali lekarze oddziałów noworodkowych. Kryterium rozpoznania zakażenia wertykalnego HCV było dwukrotne wykrycie HCV-RNA w surowicy metodą RT-PCR w pierwszym roku życia (pierwsze badanie w 2-5 miesiącu, drugie badanie w drugim półroczu życia). U dzieci zakażonych konty-

Tabela I. Porównanie metod diagnostycznych zakażenia wertykalnego HCV. Zalety i wady realizacji procedur
Table I. The comparison of vertical HCV infection diagnostic tests. Advantages and disadvantages of the procedures realization

	Oznaczenie przeciwciał anti-HCV (test ELISA)	Oznaczenie HCV-RNA (RT-PCR)	Uwagi
Liczba pobrań krwi dziecka	jednokrotne	dwukrotne	Rodzice preferują mniejszą liczbę pobrań krwi u dzieci
Wiek dziecka w chwili badania	Powyżej 18 m-ca ż.	Pierwsze badanie 2-6 m-c ż, drugie badanie 7-12 m-c ż.	Rodzice niechętnie poddają badaniu niemowlę w pierwszym rż.
Wiek dziecka w momencie potwierdzenia/ wykluczenia zakażenia	Powyżej 18 m-ca ż	Wstępna informacja w pierwszym półroczu życia, wykluczenie po drugim oznaczeniu, to znaczy w 7-12 m-cu ż.	Wcześniejsze wykrycie zakażenia nie zmienia postępowania z pacjentem. Nie proponuje się terapii poniżej 2 lat życia. Jednak wykluczenie zakażenia eliminuje poczucie lęku w rodzinie co korzystnie wpływa na rozwój dziecka.
Koszt procedury diagnostycznej	Około 40-60 PLN	400-600 PLN	

nuowano badanie HCV-RNA co 6 miesięcy przez kolejne trzy lata, u niezakażonych przez jeden rok. U wszystkich oznaczano anti-HCV (test ELISA 3 generacji) po raz pierwszy w 2-5 miesiącu życia, następnie co 3-6 miesięcy w ciągu całej obserwacji. Badanie HCV-RNA przeprowadzono przy użyciu testów komercyjnych jakościowych (Amplicor Roche) i ilościowych (Roche Cobas TaqMan HCV, zakres liniowości pomiaru: $15-6,9 \times 10^7$ IU/ml). Do oznaczania przeciwciał anti-HCV w surowicy krwi wykorzystano test ELISA 3 generacji (Ortho-Clinical Vitros ECi).

WYNIKI

Zakażenie wertykalne HCV na podstawie dwukrotnego badania RT-PCR rozpoznano u 26/317 dzieci (8,2%).

Przeciwciała anti-HCV były obecne w 3-6 m-cu życia u 288 (91%), w 7-9 m-cu u 213 (67,2%). Powyżej 18 m-ca przeciwciała anti-HCV wykryto u 21 dzieci (6,6%). W grupie 29 dzieci z wynikiem anti-HCV(-) we wszystkich badaniach w 1 r.ż. - żadne nie było zakażone wertykalnie. Wśród 21 dzieci anti-HCV (+) powyżej 18 m-ca ż.: u 18 stwierdzono utrzymywanie się wirerii HCV-RNA w ciągu całej obserwacji, 3 osiągnęło eliminację HCV-RNA (w tym dwoje stało się anti-HCV(-), jedno dziecko pozostało anti-HCV(+) do 4 r.ż., pomimo braku wykrywalnej replikacji HCV). Wśród 296 dzieci,

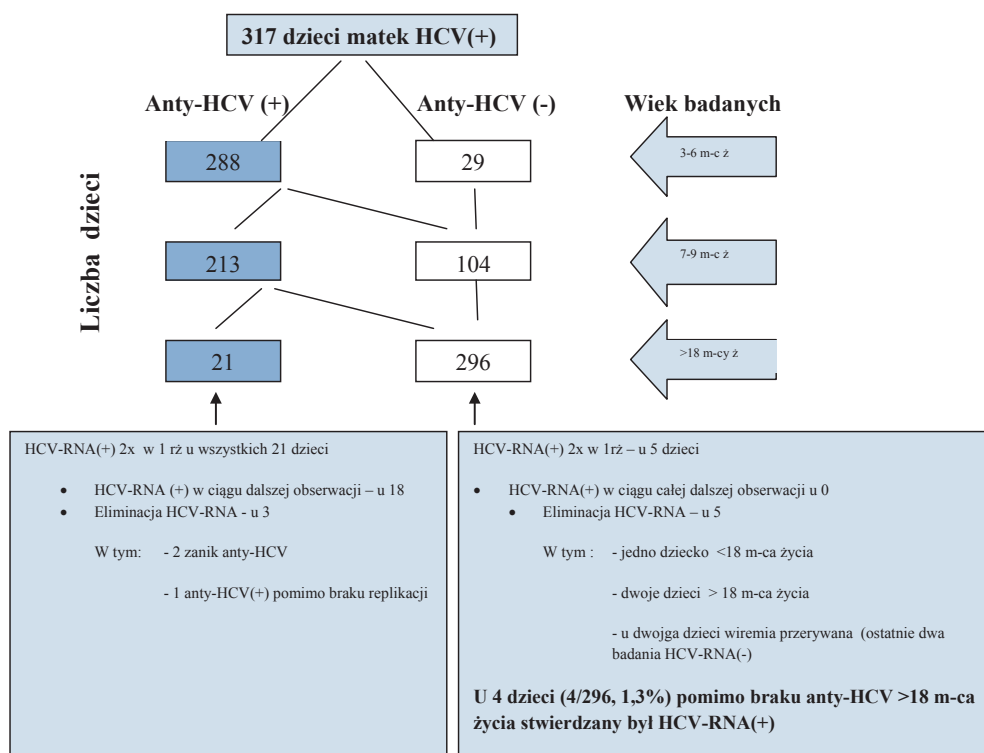
u których nie wykryto anti-HCV powyżej 18 m-ca ż., u 5 stwierdzono replikację HCV w 1 r.ż., jednak wyeliminowały one HCV-RNA w ciągu dalszej obserwacji, w tym: jedno dziecko do 18 m-ca, dwoje dzieci powyżej 18 m-ca, dwoje – z wiracją przerywaną (ostatnie dwa badania w 4 r.ż. nie wykazały replikacji). U 4 z nich (4/296, 1,3%) pomimo braku anti-HCV powyżej 18 m-ca życia stwierdzany był materiał genetyczny wirusa. Obecność przeciwciał anti-HCV u dzieci z wiracją i bez wirerii HCV przedstawia rycina 1.

DYSKUSJA

Porównywane metody diagnostyczne zakażenia wertykalnego HCV nie okazały się równoważne.

Materiał genetyczny HCV-RNA wykryto dwukrotnie w pierwszym roku życia (rozpoznając zakażenie wertykalne HCV) u 26 dzieci. Przeciwciała anti-HCV powyżej 18 m-ca życia były obecne u 21 z nich. Pięć zakażonych wertykalnie nie miało przeciwciał anti-HCV po 18 m-cu życia.

Nie wydaje się aby przyczyną tych rozbieżności były nieswoiste dodatnie wyniki badania RT-PCR. W materiale opublikowanym przez EPHN swoistość badania RT-PCR była wysoka, niezależnie od wieku dziecka i wynosiła około 98%. Częściej odnotowano wyniki fałszywie ujemne, co sugerowało, że zakażone dzieci mogą nie być zidentyfikowane, gdy poziom



Ryc. 1. Obecność przeciwciał anti-HCV w kolejnych miesiącach życia w grupie dzieci urodzonych przez matki zakażone HCV

Fig.1. Anti-HCV presence in children born to HCV infected mothers during first months of life

wiremii jest niski (3). Analiza EPHN 193 dzieci zakażonych i 354 dzieci niezakażonych wykazała niską czułość badania RT-PCR bezpośrednio po urodzeniu, wzrastającą > 80% powyżej 1 miesiąca życia. W badaniu prowadzonym w Klinice Chorób Zakaźnych Wieku Dziecięcego WUM diagnozowano dzieci w wieku co najmniej 2 m-cy życia. Ponadto, aktualnie stosowane testy RT-PCR charakteryzują się wysoką czułością, co pozwala wyeliminować problem wyników fałszywie ujemnych u dzieci obecnie zgłaszających się do badań diagnostycznych. W analizowanej grupie wszystkie dzieci anty-HCV(+) powyżej 18 m-ca życia miały uprzednio potwierdzoną wiremiię HCV-RNA w pierwszym roku życia.

Rozbieżność wyników testów diagnostycznych zakażenia wertykalnego HCV w omawianej grupie nie wydaje się być również konsekwencją fałszywie ujemnych wyników badania anty-HCV. Testy ELISA 3 generacji charakteryzują się dużą czułością: >99% (4). Problemem bywa raczej zbyt mała specyficzność. Większość ośrodków europejskich systematycznie stosuje materiały kontrolne zewnętrznej kontroli jakości, by uzyskać prawidłowy, a przy tym powtarzalny wynik. Zasada ta wprowadzana jest stopniowo także w laboratoriach polskich (5). *Watterson* i wsp. porównując najczęściej wykorzystywany test ELISA 3 generacji Ortho-Clinical Vitros ECi anty-HCV z testami ADVIA Centaur HCV screen oraz Chiron recombinant immunoblot assay (RIBA) stwierdzili niezgodność wyników odpowiednio w 63% i 75%. Wykazali oni wśród oznaczeń nisko-dodatnich wyniki fałszywie dodatnie, wymagające potwierdzenia inną metodą (6). W pracy własnej nie odnotowano fałszywie dodatnich wyników badania anty-HCV. Wszystkie dzieci anty-HCV(+) po 18 m-cu życia, miały uprzednio potwierdzone zakażenie testem RT PCR. Nie stosowano serologicznych testów potwierdzenia (RIBA).

U pacjentów dorosłych immunokompetentnych zakażenie HCV ma zwykle swoje odzwierciedlenie w syntezie przeciwciał anty-HCV. Pojawiają się one w okresie 4-10 tygodni od zakażenia (średnio 7-8 tyg), są wykrywalne w ciągu całego czasu trwania infekcji, zwykle także po eliminacji HCV-RNA z krwi, czyli gdy test RT PCR daje wynik negatywny. Wykrycie anty-HCV potwierdza więc aktualną lub przebytą infekcję (7). Jednak część zakażonych nie wytwarza przeciwciał anty-HCV lub przeciwciała te zanikają po eliminacji HCV-RNA. *Meyer* i wsp. (8) opisali 7 pacjentów którzy wyeliminowali HCV-RNA w czasie 8-31 tygodniowej obserwacji, u 4 z nich nigdy nie wykryto przeciwciał anty-HCV. Autorzy podkreślają że w tych przypadkach jedynie badanie HCV-RNA RT-PCR umożliwia postawienie rozpoznania. U dzieci zakażonych wertykalnie osiągających eliminację wiremii, częściej niż u dorosłych dochodzi do zaniku anty-HCV, co potwierdzają

obserwacje własne (w badanej grupie w ciągu całej obserwacji stwierdzono anty-HCV(-) u 7 z 8 dzieci, które wyeliminowały HCV-RNA w krwi). Brak przeciwciał anty-HCV powyżej 18 m-ca życia nie wyklucza przebytego wcześniej zakażenia.

Rezygnacja z wykonania badania RT-PCR w pierwszym roku życia i ograniczenie do oznaczania przeciwciał anty-HCV po 18 m-cu, spowodowałoby brak prawidłowej diagnozy u 5/26 (19%) zakażonych. Dzieci te osiągnęły samoistną eliminację HCV-RNA w surowicy w toku obserwacji (jedno przed zanikiem anty-HCV, czworo po zaniku). Według metaanalizy EPHN samoistną eliminację HCV-RNA w ciągu pierwszych 3 lat życia osiąga około 20% dzieci zakażonych wertykalnie. W badaniu własnym eliminację HCV-RNA stwierdzono u 30,7% (8/26) dzieci do 4 r.ż. Możliwa jest utrzymująca się przez krótki okres czasu wiremii przerywana, która we wszystkich dotychczasowych doniesieniach prowadziła do ostatecznego zaniku HCV-RNA w surowicy krwi/plazmie (3,9). Uzyskanie samoistnej eliminacji HCV jest zjawiskiem korzystnym, jednak nie ma pewności, czy trwałym oraz czy jest jednoznaczne z eradykacją zakażenia. Po eliminacji HCV u dzieci zakażonych wertykalnie nie opisano dotychczas reaktywacji z wykrywalną w surowicy wiremiię HCV. Znaczenie przebytego zakażenia HCV dla dalszego rozwoju dzieci nie jest jasne.

Ostatnio opisywane jest zjawisko tzw „ukrytego” zakażenia HCV, mikroreplikacji (*occult HCV infection*) (10,11,12):

1. Wtórne - gdy poprzedzone jest rozpoznaniem zakażenia HCV potwierdzonym standardowymi metodami, po samoistnej lub będącej następstwem leczenia eliminacji HCV z surowicy/plazmy. W badaniach zazwyczaj stwierdzana jest obecność anty-HCV, prawidłowe aktywności aminotransferaz. HCV-RNA wykrywalny w bioptacie wątroby i w PBMC (nici „minus”). Wiremii może być okresowo obecna także w surowicy lub plazmie, nie przekracza 200 kopii/ml.
2. Kryptogenne - gdy aktywność aminotransferaz jest miernie podwyższona, anty-HCV(-) w ciągu całej obserwacji, replikacja HCV-RNA jak wyżej.

Częstość „*occult replication*” w niektórych grupach pacjentów jest wysoka, np. *Barril* i wsp. zjawisko to opisali u 45% pacjentów hemodializowanych z nieprawidłowymi aktywnościami aminotransferaz (12). *Castillo* i wsp. przedstawili 122 pacjentów z ukrytą formą infekcji (HCV RNA w surowicy/plazmie(-), w bioptacie wątroby(+)), u których w 91% przypadków udało się potwierdzić zakażenie także metodami nieinwazyjnymi: obecnością przeciwciał anty-HCV core, HCV-RNA(+) w PBMC lub HCV-RNA(+) po stymulacji. Autorzy wykazali przydatność jednoczesnego wykorzystania powyższych trzech metod (93% zgodności w przypadku wyników dodatnich) w celu potwierdzenia ukrytego

zakażenia HCV u pacjentów po osiągnięciu eliminacji HCV-RNA i anty-HCV z surowicy krwi, bez konieczności wykonywania biopsji wątroby i oceny bioptatu (13). Ponadto ustalono różnice w wariantach wirusa replikujących w hepatocytach i PBMC. Jest prawdopodobne, że po eliminacji HCV-RNA z surowicy/plazmy- PBMC przechowują wariant o mniejszej zdolności namnażania (14), którego wykrycie wymaga zastosowania wysokospecjalistycznych metod aktywujących replikację (15,16). Przetrwiała replikacja w PBMC jest częstsza w zakażeniu genotypem 1b (17), który nadal dominuje w populacji polskiej. Wszystkie źródła zgodnie potwierdzają konieczność dalszej obserwacji pacjentów z ukrytą infekcją HCV w celu ustalenia znaczenia klinicznego takiego zakażenia (11,14,15,16).

Objęcie dalszą opieką dzieci z mikroreplikacją HCV będzie możliwe po wyłonieniu ich z grupy zakażonych wertykalnie, niezależnie od statusu przeciwciał anti-HCV.

WNIOSKI

1. Wykrycie przeciwciał anti-HCV u dziecka urodzonego przez matkę zakażoną HCV: a/ Poniżej 18 miesiąca życia nie świadczy o jego zakażeniu. b/ Od 18 miesiąca życia pozwala rozpoznać zakażenie HCV (choć nie zawsze z aktywną replikacją).
2. W większości przypadków brak anty-HCV powyżej 18 miesiąca życia jest jednoznaczny z wykluczeniem replikacji, jednak w 1,3% przypadków stwierdzono obecność HCV-RNA w surowicy krwi dzieci.
3. Izolowane badanie anty-HCV powyżej 18 miesiąca życia nie jest wystarczające do wykluczenia zakażenia wertykalnego. Stwierdzenie obecności anty-HCV w pierwszym roku życia jest wskazaniem do skierowania dziecka do ośrodka referencyjnego w celu przeprowadzenia pełnej diagnostyki na podstawie metody RT-PCR

PIŚMIENNICTWO

1. European Paediatric Hepatitis C Virus Network. A significant sex – but not elective cesarean section - effect on mother-to-child transmission of Hepatitis C Virus infection. *J Infect Dis* 2005;192:1872-9.
2. Aniszewska M, Kowalik-Mikołajewska B, Pokorska-Lis M, i in. Częstość występowania przeciwciał anti-HCV u kobiet ciężarnych. Analiza czynników ryzyka zakażenia HCV. *Przegl Epidemiol* 2009;63:293-8.
3. Pembrey L, Newell ML, Tovo PA, the EPHN Collaborators: The management of HCV infected pregnant women and their children. *European paediatric HCV network. J Hepatol* 2005;(43):515-25.
4. Lange Ch, Sarrazin Ch. Diagnostic tests in acute and chronic hepatitis C. w: Mauss S, Berg T, Rockstrof J,

Sarrazin Ch, Wedemeyer H, red. *Hepatology - A clinical textbook*. Wyd 2. Dusseldorf: Flying Publisher 2010:159-70. <http://www.HepatologyTextbook.com/>

5. Madaliński K, Godzik P. European demands for the formation of a hepatological laboratory network. *Experimental and Clinical Hepatol* 2009;5(2):39-43.
6. Watterson JM, Stallcup P, Chernay P, i in. Evaluation of the Ortho-Clinical Diagnostic Vitros ECi anti-HCV test: comparison with three other methods. *J Clin Lab Anal* 2007;21(3):162-6.
7. Juszczyk J. Wirusowe zapalenie wątroby typu C. w: Cianciara J, Juszczyk J, red. *Choroby Zakaźne i Pasożytnicze*. Wyd 1. Lublin: Wyd Czelej;2007:601-7.
8. Meyer MF, Lehmann M, Cornberg M, i in. Clearance of low levels of HCV viremia in the absence of a strong adaptive immune response. *Virology Journal* 2007;4:58. <http://www.virologyj.com/content/4/1/58>
9. Aniszewska M, Kowalik-Mikołajewska B, Pokorska-Lis M, i in. Spontaneous clearance of HCV-RNA in children with vertically acquired HCV infection. *Experimental and Clinical Hepatol* 2009;5(1):15-8.
10. Pham TN, Coffin CS, Michalak TJ. Occult hepatitis C virus infection : what does it mean ? *Liver Int* 2010;30(4):502-11.
11. Kowala-Piaskowska A, Mozer-Lisewska I, Pham TN, i in. Przewlekłe zapalenie wątroby i mikroreplikacja HCV. *Postępy Biochem* 2010;56(4):383-8.
12. Barril G, Castillo J, Arenas MD, i in. Occult hepatitis C virus infection among hemodialysis patients. *J Am Soc Nephrol* 2008;19(12):2288-92.
13. Castillo I, Bartolome J, Quiroga JA, i in. Diagnosis of occult hepatitis C without the need of liver biopsy. *J Med Virol* 2010;82(9):1554-9.
14. Durand T, Di Liberto G, Colman H, i in. Occult infection of peripheral B cells by hepatitis C variants which have low translational efficiency in cultured hepatocytes. *Gut* 2010;59:934-42 .
15. Pham TN, Michalak TJ. Occult persistence and lymphotropism of hepatitis C virus infection. *World J Gastroenterol* 2008;14(18):2789-93.
16. Pham TN, Mulrooney-Cousins PM, Mercer SE, i in. Antagonistic expression of hepatitis C virus and alpha interferon in lymphoid cells during persistent occult infection. *J Viral Hepat* 2007;14(8):537-48.
17. Pham TN, Mercer SE, Michalak TJ. Chronic hepatitis C and persistent occult hepatitis C virus infection are characterized by distinct immune cell cytokine expression profiles. *J Viral Hepat* 2009;16(8):547-56.

Otrzymano: 6.02.2012 r.

Zaakceptowano do druku: 19.04.2012 r.

Adres do korespondencji:

Dr n. med. Małgorzata Aniszewska

Klinika Chorób Zakaźnych Wieków Dziecięcego WUM

Wojewódzki Szpital Zakaźny w Warszawie

01-201 Warszawa, ul Wolska 37

Tel 22 33 55 250

e-mail: malgorzata.aniszewska@wum.edu.pl