

**О. П. Логинова**

*Государственное учреждение «Республиканский научно-практический центр радиационной медицины и экологии человека», Гомель, Республика Беларусь*

## **ВОЗМОЖНОСТИ ДИАГНОСТИКИ ГЕПАТИТА С В УСЛОВИЯХ МНОГОПРОФИЛЬНОЙ ЛАБОРАТОРИИ**

### ***Введение***

Несмотря на успехи, достигнутые в изучении проблемы гепатита С, значительная вариабельность вирусного генома и существующие алгоритмы лабораторной диагностики в ряде случаев препятствуют своевременной постановке диагноза, что ведет к распространению скрытых источников инфекции в обществе [1].

На сессии Регионального комитета в сентябре 2016 г. государства-члены в Европейском регионе приняли решение к 2030 г. добиться элиминации вирусного гепатита как угрозы общественному здоровью, что согласуется с Глобальной стратегией сектора здравоохранения по вирусному гепатиту на 2016–2021 гг. Государства-члены обязались реализовать перспективное видение Европейского региона, в котором отсутствуют новые случаи передачи вирусных гепатитов, обеспечена доступность тестирования, а люди, живущие с хроническими гепатитами, имеют доступ к необходимой им помощи, а также приемлемому по цене и эффективному лечению [2].

Для реализации цели элиминации вируса гепатита С требуется проводить раннее выявление вируса, установление репликативных форм и назначение эффективной противовирусной терапии.

### ***Цель***

Оценить возможности использования иммунологических и молекулярно-генетических методов для диагностики гепатита С в условиях многопрофильной лаборатории.

### ***Материал и методы***

В исследование включено 3316 пациентов, из них 1-я группа – 439 иммунокомпрометированных пациентов (пациенты с первичными иммунодефицитами, пациенты после трансплантации почки и/или находящиеся на гемодиализе), которые находились на стационарном лечении в ГУ «РНПЦ РМиЭЧ». Во вторую группу были включены 2877 беременных женщин, проходивших плановое обследование, регламентированное клиническим протоколом «Медицинское наблюдение и оказание медицинской помощи женщинам в акушерстве и гинекологии», утвержденным постановлением № 17 от 10.02.2018 г. МЗ РБ.

Материалом для исследования являлась сыворотка и плазма крови. Для скрининга проводилось определение anti-HCV IgG, методом автоматизированного ИФА на анализаторе VIDAS BioMerieux (Франция) с флуоресцентным механизмом детекции. При получении положительных результатов при определении anti-HCV IgG сыворотка крови пациента исследовалась на наличие антигена гепатита С. В образцах крови от иммунокомпрометированных пациентов проводилось параллельное тестирование на anti-HCV IgG и core-Ag HCV. Определение core-Ag HCV выполнялось на иммунологическом анализаторе ARCHITECT i2000, Abbott (США) с хемилюминесцентной детекцией. Результат определения оценивался по критериям:  $<3,0 \text{ S/CO}$  – отрицательный,  $\geq 3,0 \text{ S/CO}$  – положительный. Коэффициент прямо пропорционален количеству антигена гепатита С в образце.

При получении позитивного результата core-Ag HCV проводилось определение вирусной нагрузки (детектировали HCV RNA количественно). При вирусной нагрузке более 500 МЕ/мл определялся генотип вируса гепатита С в плазме крови. Выделение RNA выполнялось на роботизированной автоматической установке Abbot m24sp, амплификация и детекция осуществлялась на анализаторе m2000 rt (Abbott, США) с флуоресцентной детекцией результатов в режиме реального времени. Определение вирусной нагрузки проводилось с использованием высокочувствительной тест-системы с нижним пределом обнаружения <12 МЕ/мл. Для определения генотипа применялась полимеразная цепная реакция с обратной транскрипцией. на анализаторе m2000rt, Abbott (США). Используемая тест-система для HCV Genotype II предназначена для обнаружения 1, 2, 3, 4, 5, 6 генотипов HCV, с дифференцировкой на субтипы 1a и 1b, при помощи генотип-специфичных флуоресцентно-меченых зондов. Все исследования выполнялись на базе лаборатории клеточных технологий ГУ «РНПЦ РМиЭЧ».

Результаты и обсуждение. При проведении диагностики гепатита С в условиях многопрофильной лаборатории стоят следующие задачи:

- установить факт инфицированности пациента;
- определить показания к противовирусной терапии;
- провести генотипирование вируса гепатита С с целью выбора оптимальной схемы терапии;
- динамически оценить эффективность и устойчивый ответ на проводимое лечение.

Для установления факта инфицированности для 1-й группы пациентов проводилось параллельное определение anti-HCV IgG и core-Ag HCV. Так как одной из наиболее важных проблем при проведении ИФА на наличие anti-HCV является получение ложноотрицательных результатов в связи с отсутствием специфического антителообразования, как правило, на фоне иммуносупрессии у лиц с ВИЧ-инфекцией, после гемодиализа и трансплантации органов, у новорожденных с перинатальной инфекцией [1]. В частности, С. Cornu и соавт. обнаружили, что у обследованных иммунокомпрометированных пациентов анти-HCV начали обнаруживаться лишь спустя 14 месяцев и более от момента инфицирования, установленного с помощью ПЦР.

В первой группе положительные результаты определения anti-HCV IgG получены у 9 пациентов, что составило 2,05 %. В результате определения core-Ag HCV позитивными оказались образцы от 6 пациентов (1,37 %), из них у одного пациента был получен положительный результат core-Ag HCV, при отрицательном результате на anti-HCV IgG.

Для 2-й группы факт инфицированности устанавливался стандартно с использованием скринингового определения анти-HCV. Затем при получении положительного результата проводилось определение антигена HCV. В этой группе антитела обнаружены у 41 пациентки, что составило 1,43 %, из них антиген гепатита С был положительным у 3 (0,1 %) женщин. Core-антиген HCV определяется через 2–3 дня после обнаружения HCV RNA и может использоваться при выявлении ранней стадии гепатита С. Так в рекомендациях по лечению хронического гепатита С (EASL, 2018) указано – HCV core-антиген – является суррогатным маркером репликации вируса гепатита С [3].

Следующим этапом было определение показаний для проведения противовирусной терапии. В положительных образцах на core-Ag HCV проводилось определение вирусной нагрузки. В 1-й группе обнаружена RNA HCV во всех 6 случаях, во 2-й группе – в трех образцах, положительных на core-Ag HCV. Вирусная нагрузка определе-

на, как высокая (>2000 МЕ/мл) у 8 пациентов, что указывает на репликативную форму вирусного гепатита С и является показанием для назначения противовирусной терапии.

С целью подбора эффективной схемы терапии в образцах сыворотки пациентов с высокой вирусной нагрузкой проводилось генотипирование вируса. При определении генотипа HCV выявлено преобладание 1 типа 1b субтипа (62,5 %), у 3-х пациентов определен 3 тип вируса. По данным авторов, на территории Российской Федерации также преобладает 1 тип 1b субтип вируса гепатита С (52,8 %). В зависимости от величины вирусной нагрузки, типа вируса пациентам по результатам ПЦР исследования подбиралась схема терапии, дозировка и длительность ее проведения.

Оценка эффективности противовирусной терапии осуществлялась в динамике. Через 4 недели после начала терапии проводили повторное определение вирусной нагрузки. У 2-х пациентов определена вирусная нагрузка <12 МЕ/мл, у 6 – RNA HCV не обнаружена. Через 8 нед. после начала терапии только у одной пациентки определялась RNA HCV <12 МЕ/мл. По истечении 12 недель терапии у всех пациентов получены отрицательные результаты детекции RNA HCV, что констатирует эффективность проводимой противовирусной терапии и указывает на устойчивый ответ на лечение.

### **Выводы**

Гепатит С является социально-значимой инфекцией и зачастую протекает латентно. Для своевременного выявления всех случаев инфицирования на ранних этапах необходимо использование тестов, обладающих высокой чувствительностью и специфичностью. Одним из таких современных тестов является определение core-Ag HCV. Антиген выявляется в крови на неделю позже вирусной РНК и служит хорошей альтернативой ПЦР диагностике в период «серонегативного окна». При этом core-Ag HCV может быть единственным серологическим маркером для ранней диагностики HCV-инфекции у иммунокомпрометированных пациентов.

Молекулярно-генетические методы позволяют определить показания к назначению противовирусной терапии, подобрать оптимальные схемы для каждого пациента и провести оценку эффективности проводимого лечения.

Таким образом, в арсенале современной многопрофильной лаборатории должны быть тесты, позволяющие осуществить диагностику гепатита С и решить все выше поставленные задачи для различных групп пациентов.

### **СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ**

1. Михайлова, Ю. В. Иммунологические и молекулярно-генетические методы в эпидемиологическом надзоре за гепатит С-инфекцией / Ю. В. Михайлова, Т. Н. Быстрова// МедиАль. – 2014. – № 2 (12). – С. 103–121.
2. Глобальная стратегия сектора здравоохранения по вирусному гепатиту на 2016-2021 гг. На пути к ликвидации вирусного гепатита / Всемирная организация здравоохранения. Женева, 2016. – URL: <http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/250042/1/WHO-HIV-2016.06-rus.pdf?ua=1> (дата обращения: 28.09.2020).
3. EASL Recommendations on Treatment of Hepatitis C 2018. European Association for the Study of the Liver/ J. Hepatol). – 2018 – Vol. 69, № 2 – P. 461–511.