

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ
УЧРЕЖДЕНИЕ ОБРАЗОВАНИЯ
«ГОМЕЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»
КАФЕДРА ИНФЕКЦИОННЫХ БОЛЕЗНЕЙ

А. П. ДЕМЧИЛО

ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА ВИРУСНЫХ ГЕПАТИТОВ

Учебно-методическое пособие
по инфекционным болезням
для студентов медицинских вузов

Гомель 2008

УДК 616.36-002-071

ББК 55.141

Д 32

Автор:

А. П. Демчило

Рецензент:

заведующая кафедрой клинической лабораторной диагностики
Гомельского государственного медицинского университета,
доктор медицинских наук. *И. А. Новикова*

Демчило, А. П.

Д 32 Лабораторная диагностика вирусных гепатитов: учеб.-метод. пособие по инфекционным болезням для студентов медицинских вузов / А. П. Демчило. — Гомель : УО «Гомельский государственный медицинский университет», 2008. — 32 с.
ISBN 978-985-506-108-4

В учебном пособии рассматриваются вопросы специфической лабораторной диагностики вирусных гепатитов, основанной на современных методах исследования.

Пособие составлено в соответствии с программой по инфекционным болезням и предназначено для студентов лечебного, медико-диагностического и медико-профилактического факультетов.

Утверждено и рекомендовано к изданию Центральным учебным научно-методическим советом УО «Гомельский государственный медицинский университет» 4 января 2008 г., протокол № 1.

УДК 616.36-002-071

ББК 55.141

ISBN 978-985-506-108-4

© Учреждение образования
«Гомельский государственный
медицинский университет», 2008

СОДЕРЖАНИЕ

Перечень условных обозначений	4
Специфическая диагностика вирусных гепатитов	5
Вирусный гепатит А	5
Вирусный гепатит В.....	7
Вирусный гепатит С.....	16
Вирусный гепатит D	23
Вирусный гепатит E.....	26
Вирусный гепатит G	26
Биохимические синдромы поражения печени	27
Литература	29

ПЕРЕЧЕНЬ УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

АлАТ	— аланинаминотрансфераза
АсАТ	— аспартатаминотрансфераза
АТ	— антитела
ВГА	— вирус гепатита А
ВГВ	— вирус гепатита В
ВГС	— вирус гепатита С
ВГD	— вирус гепатита D
ВГЕ	— вирус гепатита E
ДНК	— дезоксирибонуклеиновая кислота
ИФА	— иммуноферментный анализ
ПЦР	— полимеразная цепная реакция
РНК	— рибонуклеиновая кислота
ХВГ	— хронический вирусный гепатит
Ag	— антиген
Anti-... IgG	— антитела к ... класса G
Anti-... IgM	— антитела к ... класса M
HAV	— вирус гепатита А (hepatitis A virus)
HBV	— вирус гепатита В (hepatitis B virus)
HCV	— вирус гепатита С (hepatitis C virus)
HDV	— вирус гепатита D (hepatitis D virus)
HEV	— вирус гепатита E (hepatitis E virus)
HGV	— вирус гепатита G (hepatitis G virus)
γ-ГТП	— гаммаглутамилтранспептидаза

СПЕЦИФИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА ВИРУСНЫХ ГЕПАТИТОВ

Вирусные гепатиты (ВГ) — большая группа инфекционных заболеваний человека, характеризующихся преимущественным поражением печени. Заболевания имеют сходную клиническую картину, но различаются этиологией, эпидемиологией, патогенезом и исходами.

В таблице 1 представлены общие характеристики вирусных гепатитов.

Таблица 1 — Общие характеристики вирусных гепатитов

Заболевание / возбудитель	Геном вируса	Способ передачи	Диагностические тесты
Гепатит А HAV	Одноцепочечная РНК, 7500 осн.	Энтеральный	HAV RNA, HAVAg, антитела к вирусу
Гепатит В HBV	Двухцепочечная ДНК, 3200 осн.	Парентеральный	HBV DNA, HBsAg, HBeAg, антитела к вирусным антигенам
Гепатит С HCV	Одноцепочечная РНК, 9500 осн.	Парентеральный	HCV RNA, антитела к вирусным антигенам
Гепатит D HDV	Одноцепочечная РНК, 1700 осн.	Парентеральный	HDV RNA, HDV Ag, антитела к вирусу
Гепатит Е HEV	Одноцепочечная РНК, 7500 осн.	Энтеральный	HEV RNA, антитела к вирусу
Гепатит G HGV	Одноцепочечная РНК, 9500 осн.	Парентеральный	HGV RNA

Вирусный гепатит А (ВГА) вызывается РНК-содержащим энтеровирусом 72 типа из семейства Picornaviridae, открытым в 1973 году. Вирус обладает одноцепочечной молекулой РНК, состоящей из 7478 оснований и кодирующего белка, который состоит из 2227 аминокислот. Вирусный белок впоследствии расщепляется протеазами на структурные и неструктурные белки. Структурные белки включают полипептиды оболочки (VP1, VP2, VP3, VP4), неструктурные — хеликазу, РНК-зависимую РНК-полимеразу и цистеинсодержащую протеазу. Существуют 4 генотипа вируса, различающихся структурой участка, который кодирует полипептид VP1, однако вариабельность генома не затрагивает антигенную структуру вируса. Иммунодоминантный эпитоп, к которому образуются нейтрализующие антитела, является общим для всех генотипов вируса. Поэтому все генотипы вируса относятся к одному серотипу. Следовательно, тест-системы для обнаружения антител к вирусу выявляют их независимо от географического происхождения вируса.

Маркеры инфекции

1. Антиген вируса (HAV Ag)

Выявляется иммуноферментным методом в фекалиях больного в конце инкубационного периода (через 10–20 дней после инфицирования), в продромальный период и в течение 1–3 дней после появления желтухи. В самом начале периода разгара гепатита А антиген вируса обнаруживается только у 20–50% пациентов. Определение HAV Ag в клинической практике не используется. Эпидемиологи используют выявление HAV Ag в объектах внешней среды (в воде) для обнаружения источника распространения инфекции. Это возможно только после предварительной концентрации исследуемого материала в 1000 раз и более.

2. Антитела к вирусу класса IgM (anti-HAV IgM)

Выявляются иммуноферментным и радиоиммунологическим методами в сыворотке/плазме крови в начале заболевания независимо от наличия или отсутствия клинических симптомов. Эти антитела появляются в сыворотке еще в преджелтушный период, за 3–5 дней до появления клинических симптомов. Титр антител быстро нарастает; максимальная их концентрация сохраняется на протяжении 1,5–6 месяцев. Спустя 1 год после выздоровления антитела в крови не обнаруживаются. Выявление антител класса IgM указывает на острое заболевание. Это основной тест для диагностики вирусного гепатита А.

3. Антитела к вирусу класса IgG (anti-HAV IgG)

Выявляются иммуноферментным методом в сыворотке/плазме крови в начале заболевания, несколько позже, чем anti-HAV IgM, но концентрация их выше. После выздоровления anti-HAV IgG обнаруживаются в крови пожизненно и рассматриваются как показатель иммунной защиты против вируса. Наличие anti-HAV IgG при отсутствии anti-HAV IgM указывает на факт перенесенного в прошлом вирусного гепатита А (маркер пастинфекции).

Уровень anti-HAV IgG может быть определен количественно с целью оценки динамики поствакцинального иммунного ответа при вакцинировании против гепатита А.

4. РНК вируса (HAV RNA)

Выявляется в сыворотке крови, фекалиях, воде и пищевых продуктах. Выявление РНК ВГА в сыворотке коррелирует с максимальным уровнем противовирусных антител класса IgM; в фекалиях указывает на «инфекционность» больного; в воде и пищевых продуктах — на их зараженность вирусом.

Примерный серологический профиль, характерный для ВГА представлен на рисунке 1.

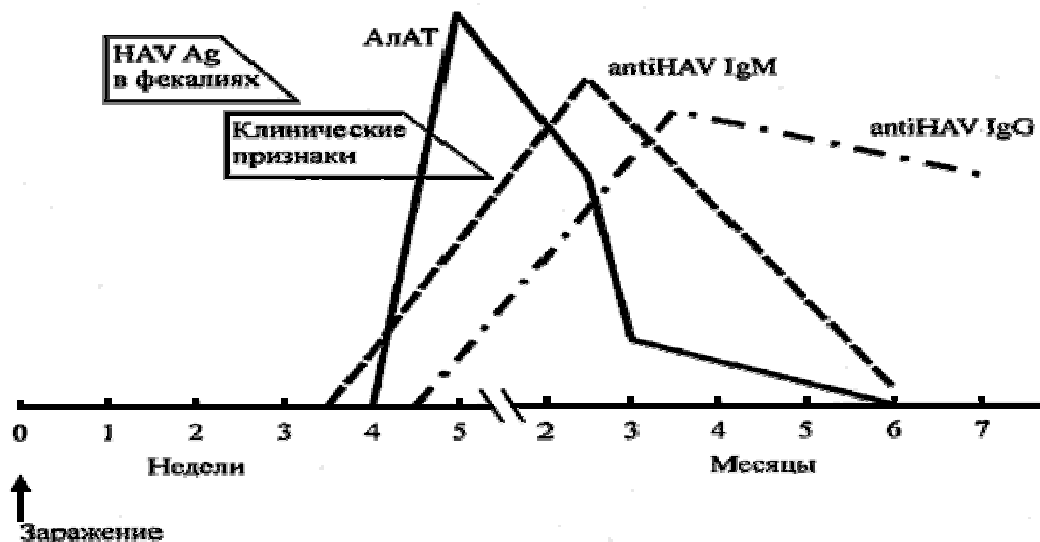


Рисунок 1 — Примерный серологический профиль, характерный для вирусного гепатита А

Вирусный гепатит В

Вирус гепатита В (hepatitis B virus, HBV) относится к ДНК-содержащим вирусам семейства *Неpadnaviridae*.

Вирусный гепатит В — одна из самых сложных по патогенезу и разнообразная по своим проявлениям вирусная инфекция. Острый вирусный гепатит В в большинстве случаев заканчивается выздоровлением и только у 5–10% больных переходит в хроническую форму. Хронический вирусный гепатит В имеет две стадии — репликативную и интегративную. Дифференцировка между формами ВГВ определяется обнаружением специфических антигенных (HBs-, HBe-антигены), иммунологических (антитела класса IgM и IgG к HBs-, HBcor-, HBe антигенам) или генетических (нуклеотидные последовательности ДНК ВГВ) маркеров этой инфекции в крови, лимфе и других биологических жидкостях организма, а также в клетках и тканях различных органов.

Вирион ВГВ выглядят сферической частицей диаметром 42–45 нм, имеет наружную липопротеидную оболочку, внутреннюю оболочку и нуклеокапсид (рисунок 2). Внешняя оболочка образована поверхностным антигеном — HBsAg, с распределенными на внешней стороне вируса preS1- и preS2 протеинами. Эти белки ответственны за прикрепление и проникновение вируса в клетки печени. Нуклеокапсид включает ДНК, фермент ДНК-полимеразу и несколько протеинов: HBcorAg, HBeAg и HBxAg. Геном вируса представлен кольцевой молекулой ДНК, включающей участки как однонитевой, так и двунитевой структуры. Вирусная ДНК состоит из 3200 нуклеотидов и объединяет четыре гена (P, C, S и X). Существует не менее 6 генотипов ВГВ (A, B, C, D, E, F).

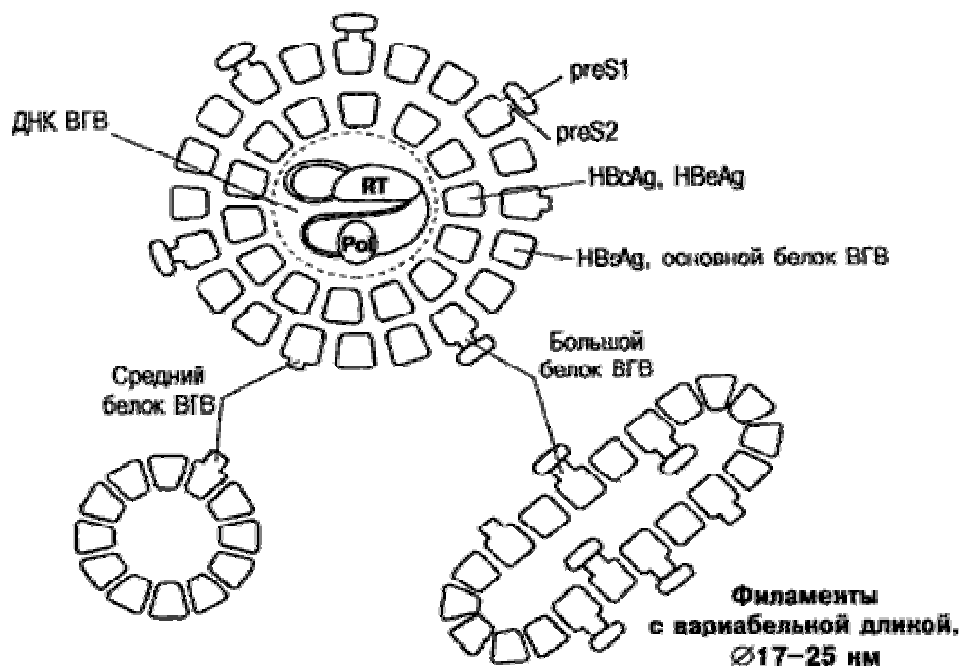


Рисунок 2 — Структура вируса гепатита В

ВГВ обладает мутационной изменчивостью, с чем могут быть связаны случаи ациклического течения заболевания. Так, кроме нормального «ди-кого» HBV-варианта, существуют мутантные формы: вариант Сенегал, при котором сохраняется продукция HBsAg, но не определяются антитела к HBcAg; HBVe(–), при котором не определяется HBeAg, и др. Вирус гепатита В является псевдоретровирусом, т. е. его ДНК может частично встраиваться в геном гепатоцитов.

Основой лабораторной диагностики инфекции HBV является определение серологических маркеров: HBsAg, HBeAg, anti-HBcAg класса IgM и IgG, anti-HBe и anti-HBs, ДНК HBV.

Схема лабораторной диагностики ВГВ

1. Первичное массовое обследование на ВГВ — определение методом ИФА в сыворотке крови HBsAg (инфицированность).
2. Определение панели серологических маркеров для уточнения стадии заболевания и активности инфекции.
3. ПЦР-анализ — определение генетического маркера ДНК ВГВ для подтверждения диагноза ВГВ, мониторинга хронического течения, оценки эффективности проводимой терапии.

Маркеры инфекции

1. HBsAg (поверхностный антиген)

HBsAg — основной маркер инфицирования HBV. Концентрация HBsAg в сыворотке больных обычно колеблется от 1 до 50 мкг/мл, редко — до 500 мкг/мл.

HBs-антиген существует в виде трех морфологически различных вариантов:

- представляет суперкапсид цельного вириона;
- в большом количестве встречается в виде малых сферических белковых частиц диаметром 20–22 нм. Эти частицы внутри полые, не содержат ДНК вируса, следовательно, неинфекционные и, главным образом, состоят из HBs-антигена с небольшим содержанием preS2-антигена.
- в виде нитей длиной 230 нм.

С точки зрения иммуногенности выделяют различные серотипы HBsAg (adw, adr, ayw, ayr), образующиеся путем сочетания основной антигенной детерминанты «а» с двумя субдетерминантами, попарно исключаящими друг друга (d/y, w/r).

Выявление HBsAg указывает на инфицированность вирусом гепатита В. Обнаруживается и при остром гепатите В, и при хроническом гепатите В, поэтому этот маркер не может быть использован для дифференциальной лабораторной диагностики острых и хронических форм инфекции.

HBsAg является наиболее ранним маркером острого вирусного гепатита В, появляется в крови в инкубационном периоде, начиная с 3–5-й недели заражения. HBsAg циркулирует при остром течении заболевания в среднем 70–80 дней (очень редко до 5–6 месяцев). Обнаружение HBsAg в крови более 6 месяцев может указывать на начало хронизации процесса. При хроническом гепатите В HBsAg циркулирует в крови больного на протяжении многих лет.

Положительный результат обязательно должен быть проверен путем перестановки анализа в двух параллельных пробах. Если хотя бы одна из двух проб данной сыворотки или плазмы при этом снова дает положительный результат, образец считают первично положительным и исследуют в подтверждающей тест-системе на основе реакции нейтрализации. Это необходимо иметь в виду, поскольку многие иммуноферментные тест-системы, обладая невысокой специфичностью, способны давать большое число ложноположительных результатов.

Отрицательный результат тестирования на HBsAg чаще всего свидетельствует об отсутствии гепатита В у обследуемого. Однако необходимо иметь в виду, что полностью диагноз данной инфекции при этом исключить нельзя, так как:

- а) пациент может находиться в инкубационном периоде заболевания до появления маркеров ВГВ;
- б) HBsAg не обнаруживается при фульминантных формах гепатита В;
- в) HBsAg не обнаруживается при инфекции, вызванной HBsAg-негативным мутантом;
- в) чувствительность тест-системы может быть недостаточной;
- г) при преимущественном синтезе «большого» HBsAg «малая» форма антигена может какое-то время не секретироваться в кровоток.

Поэтому при наличии клинических признаков гепатита и отсутствии HBsAg в сыворотке крови необходимо исследовать другие маркеры инфекции HBV.

Наличие HBsAg в крови свидетельствует о присутствии вируса в печени и с большой долей вероятности в крови. Но не всякая сыворотка, содержащая HBsAg, содержит вирус гепатита В. В ряде случаев ДНК вируса встраивается в ДНК гепатоцита не полностью, а частично, только тем участком, который кодирует синтез HBsAg. В этих случаях синтезируются HBsAg без других компонентов вириона, то есть без других антигенов. Считают, что такая ситуация возникает при «здоровом» носительстве HBsAg.

HBsAg не обнаруживается у реконвалесцентов острого вирусного гепатита В и у привитых против гепатита В (иммунных лиц).

2. Антитела к поверхностному антигену (anti-HBs)

Антитела к HBsAg (anti-HBs) свидетельствуют о ранее перенесенной инфекции или о наличии поствакцинального иммунитета. При острой инфекции anti-HBs IgM появляются в период выздоровления, через 4 недели после начала заболевания, определяются в течение 1–2 месяцев, затем они исчезают. Anti-HBs IgG достигают максимальной концентрации через 1–2 года, сохраняются в течение 10 лет и более с последующим постепенным снижением уровня, недоступного выявлению современными методами диагностики. В некоторых случаях anti-HBs могут циркулировать пожизненно.

Поскольку эти антитела являются вируснейтрализующими, их исчезновение через 10 лет, по крайней мере, у части пациентов, перенесших инфекцию, означает, что постинфекционный иммунитет при гепатите В не всегда является пожизненным. Не исключена возможность развития повторных случаев гепатита В у одного и того же человека.

Быстрое исчезновение HBsAg (в первые дни желтухи) с появлением anti-HBs — плохой прогностический признак, указывающий на развитие гепатодистрофии. Появление anti-HBs на фоне клинического улучшения у больного гепатитом В является хорошим прогностическим признаком.

При проведении вакцинации, когда в организм вводится рекомбинантный HBsAg, титр anti-HBs постепенно нарастает, тогда как антитела к другим антигенам вируса не образуются. При этом уровень anti-HBs 10 МЕ/мл и выше свидетельствует об адекватном ответе на вакцинацию. Поствакцинальный иммунитет сохраняется 10–15 лет.

3. Антитела к сердцевинному антигену (anti-HBcorAg)

HBcorAg антиген (серцевинный) обнаруживается только в ткани печени, в крови не циркулирует. Он обладает высокой иммуногенностью, с которой связан адекватный иммунный ответ организма при циклическом течении острого гепатита В в виде образования антител (anti-HBcor).

Особая диагностическая роль принадлежит антителам (anti-HBcor). Антитела к сердцевинному антигену вируса гепатита В класса М (**anti-**

HBcor IgM) — маркер активной репликации HBV и острой инфекции. Выявляются через 1–2 недели после обнаружения HBsAg и сохраняются на протяжении 2–18 месяцев. Появление их в крови является подтверждением острого гепатита В. Поскольку данный диагноз чаще ставится на основании клинической картины, повышения активности аланинаминотрансферазы (АлАТ) сыворотки крови и обнаружения HBsAg в крови, диагностическое значение anti-HBcor IgM особенно велико в следующих случаях:

- а) когда специфическая диагностика гепатита В по каким-либо причинам производится поздно; при этом HBsAg в крови может уже отсутствовать;
- б) при остром гепатите у больного хроническим гепатитом В. Если такой гепатит связан с суперинфицированием другими гепатотропными вирусами (картина, часто наблюдающаяся в эндемичных по гепатиту В районах), то характерным будет отсутствие или низкий титр anti-HBcor IgM.

При хроническом вирусном гепатите В anti-HBcor IgM выявляются в стадию репликации, указывая на обострение заболевания. Причем выявляются они в меньших титрах, чем при острой инфекции.

Антитела к HBcorAg класса IgG (**anti-HBcor IgG**) появляются практически одновременно с anti-HBcor IgM. Они остаются пожизненно у всех лиц, переболевших гепатитом В (маркер пастинфекции).

Значимость anti-HBcor IgG как маркера перенесенной инфекции выше, чем anti-HBs, так как:

- а) anti-HBs могут появиться в результате вакцинации;
- б) anti-HBs при остром гепатите В не развиваются у 15% реконвалесцентов;
- г) в течение 6 лет после острого гепатита В anti-HBs могут исчезать у 20% переболевших.

Anti-HBcor IgG также выявляются у носителей HBsAg и больных хроническим гепатитом В.

Службы крови ряда зарубежных стран (например, США) включили в перечень обязательных исследований всей донорской крови тестирование на наличие anti-HBcor. При этом выявляются суммарные антитела (total) без идентификации отдельного класса иммуноглобулинов. Для выбраковки крови достаточно просто наличия в ней anti-HBcor.

4. «Антиген инфекционности» (HBeAg)

HBeAg представляет собой вид сердцевинного белка, он не является, как полагали раньше, продуктом распада HBcorAg. Ген, кодирующий синтез HBeAg, расположен в непосредственной близости к гену синтеза HBcorAg и насчитывает 29 кодонов. Установлено, что наличие HBeAg в крови является характеристикой экспрессии его зрелым вирусом так называемого дикого типа (нормальный, наиболее распространенный вариант).

HBeAg характеризует высокую инфекционность крови, являясь показателем активной репликации вируса и высокой ДНК-полимеразной ак-

тивности. Появляется в крови больных острым и хроническим гепатитом В обычно в фазе вирусемии. В первую неделю желтушного периода он выявляется у 85–95% больных. Исчезновение HBeAg из крови через 2–4 недели с начала болезни и появление антител к нему (сероконверсия) указывает на благоприятное течение заболевания. Напротив, длительное сохранение HBeAg (в течение двух и более месяцев) указывает на высокий риск хронизации гепатита В. У больных ХВГ В с высокой активностью HBeAg сохраняется длительное время (до нескольких лет).

Тестировать на наличие HBeAg имеет смысл только HBsAg-положительные сыворотки, так как обнаружение его в HBsAg-отрицательных образцах весьма редко и большей частью представляет собой ложноположительный результат.

5. Антитела к «антигену инфекционности» (anti-HBe)

Антитела к HBeAg появляются в крови после элиминации HBeAg и завершения репликации вируса. К концу 9-й недели острого периода гепатита В более 90% больных имеют anti-HBe. В период выздоровления anti-HBe могут исчезать. Однако наличие anti-HBe не является показателем отсутствия инфекционности конкретной сыворотки крови.

Существовавшее ранее однозначное мнение о наличии anti-HBe в крови как благоприятном прогностическом признаке, свидетельствовавшем о развитии протективного иммунного ответа, сегодня нуждается в существенной коррекции. Можно сказать, что при остром гепатите В благоприятное прогностическое значение имеет, в первую очередь, выявляемая при динамическом наблюдении сероконверсия, т. е. исчезновение HBeAg и появление anti-HBe. В особенности этот серологический феномен важен в прогностическом отношении при оценке эффективности противовирусной терапии.

Неоднозначность интерпретации anti-HBe-положительности оказалась связанной с открытием дефектных вариантов вирусов, имеющих мутацию в зоне генома, предшествующей гену синтеза сердцевинного белка (так называемые pre-core-мутанты) и получивших обозначение HBeAg-отрицательных. Эти вирусы не способны синтезировать HBeAg, но, тем не менее, при инфекции, вызванной ими, в крови длительно обнаруживаются anti-HBe. Основные различия хронической инфекции, вызванной вирусами гепатита В дикого типа и pre-core-мутантами, приведены в таблице 2.

Наличие HBeAg-отрицательного мутанта приводит к прогрессированию поражения печени при продолжающейся репликации вируса (наличие ДНК HBV в сыворотке крови). При первичном инфицировании HBeAg-отрицательным мутантом существенно возрастает риск развития фульминантного гепатита.

При хроническом гепатите В, вызванном вирусом дикого типа, отсутствие HBeAg при наличии антител к нему свидетельствует об интегративной стадии заболевания. Появление HBeAg указывает на активную репли-

кацию вируса и обострение гепатита. Отсутствие HBeAg у больных хроническим гепатитом В при наличии вирусемии (ДНК HBV в крови) следует считать косвенным признаком инфекции рге-соге-мутантом вируса.

Таблица 2 — Сравнительные характеристики хронического гепатита В, вызванного различными вариантами вируса

Характеристики	Инфекция, вызванная	
	вирусом дикого типа	рге-соге-мутантом
Возраст	Чаще < 40 лет	Чаще > 40 лет
Повышение активности АлАТ	Стабильное	Переमेжающееся
Вирусемия	Стабильная	Перемежающаяся
Прогрессирование	У 50%	У 80%
Эффективность интерферона	Высокая	Низкая

6. Антиген Х

HBxAg состоит из 159 аминокислот и представляет собой регуляторный белок, хотя возможна и роль его как структурного вирусного белка. Полагают, что он активирует экспрессию всех вирусных генов и усиливает синтез вирусных протеинов. Играет особую роль в развитии первичной гепатокарциномы, т. к. наиболее активно функционирует в клетках первичного рака печени. Антитела к антигену Х выявляются в крови больных хроническим, но не острым гепатитом В.

7. ДНК вируса (DNA HBV)

ДНК вируса гепатита В обнаруживается в сыворотке или плазме крови методом полимеразной цепной реакции. Методы генодиагностики, к которым относится ПЦР, существенно расширяют возможности лабораторной диагностики вирусного В, позволяя непосредственно выявить возбудитель, установить тканевую и внутриклеточную локализацию HBV, выявить и охарактеризовать мутантные формы вируса, оценить уровень вирусемии в течение заболевания, в том числе на фоне противовирусной терапии.

Выявление ДНК HBV означает вирусемическую стадию процесса и свидетельствует о высокой репликативной активности вируса. При остром гепатите В содержание ДНК HBV в крови быстро возрастает в течение инкубационного периода и становится максимальным в начале периода разгара. Циркуляция ДНК вируса более 5–6 месяцев является неблагоприятным прогностическим признаком и часто свидетельствует о хронизации гепатита В. При интегративной форме хронического гепатита В ДНК HBV в сыворотке крови не выявляется.

Методы генодиагностики, к которым относится ПЦР, существенно расширяют возможности лабораторной диагностики вирусного В, позволяя непосредственно выявить возбудитель в биологическом материале: сыво-

ротке или плазме крови, установить тканевую и внутриклеточную локализацию HBV (в ткани печени, мононуклеарах), выявить и охарактеризовать мутантные формы вируса, оценить уровень виремии в течение заболевания, в том числе на фоне противовирусной терапии. Одним из вариантов качественного определения ДНК HBV является технология ПЦР in situ (в гистологических срезах), позволяющая установить внутриклеточную локализацию вируса в гепатоцитах.

Единственная коммерческая тест-система дифференциальной диагностики HBeAg-отрицательного гепатита В создана фирмой «Abbot» с использованием лигазной цепной реакции. Выявление всей совокупности генетических изменений, характерных для HBeAg-отрицательных вирусов гепатита В, возможно пока только прямым секвенированием ПЦР-амплифицированных фрагментов вирусного генома.

Новым методом количественного определения вирусной ДНК является технология, разработанная фирмой Chiron Corporation (США), с использованием так называемой разветвленной ДНК (branched DNA, или bDNA), отличающаяся очень высокой чувствительностью и воспроизводимостью, следовательно, большей точностью количественного определения по сравнению с другими методами.

Количественная характеристика содержания ДНК HBV важна для оценки эффективности противовирусной терапии и имеет прогностическое значение для определения хронизации HBV. При исходно низком уровне виремии (ДНК HBV менее 500 фг/мкл) процент хронизации острого гепатита В близок к нулю, при концентрации ДНК HBV от 500 до 2000 фг/мкл хронизация процесса наблюдается у 25–30% больных, а при высоком уровне виремии у пациента (более 2000 фг/мкл) острый гепатит В чаще всего переходит в хронический. Больные ХВГ В с низкими уровнями ДНК HBV лучше отвечают на противовирусную терапию.

Маркеры хронизации гепатита В:

1. высокие уровни ДНК вируса гепатита В в сыворотке крови на начальной стадии инфекции;
2. высокие концентрации HBsAg и HBeAg на начальной стадии инфекции;
3. персистенция HBsAg более 6 месяцев и HBeAg более 10 недель;
4. anti-HBs не появляются после перенесенной инфекции;
5. персистенция anti-HBs IgM более 2 месяцев;
6. инфицирование в раннем детском возрасте;
7. инфекция, вызванная HBeAg-негативным мутантом вируса;
8. наличие у инфицированных первичного или вторичного иммунодефицита.

Серодиагностика вирусного гепатита В

В зависимости от течения вирусного гепатита В спектр изменения серологических маркеров выглядит по-разному. Спектр антител и антигенов позволяет установить диагноз гепатита В и определить стадию заболевания (таблицы 3,4).

Таблица 3 — Различные сочетания серологических маркеров инфицирования вирусом гепатита В и их интерпретация

HBsAg	HBeAg	anti-HBcor IgM	anti-HBcor IgG	anti-HBe	anti-HBs	HBV ДНК	Трактовка результата
+	+	+	+	–	–	+	Острый гепатит В
+	–	+	+	–	–	+	Острый гепатит В Мутантный штамм
+	–	+/-	+	+	–	-/+	Сероконверсия острого гепатита В
–	–	–	+	-/+	+/-	–	Перенесенный гепатит В
+	+	+/-	+	-/+	–	+	Хронический репликативный гепатит В
+	–	–	+	+	–	+/-	Хронический интегративный гепатит В
+	–	–	+	–	-/+	–	«Здоровое» носительство
–	–	–	–	–	+	–	Состояние после иммунизации

Таблица 4 — Серологические маркеры при остром гепатите В

Маркеры инфекции	Период болезни					
	начало инку- баци- онного периода	конец инку- баци- онного периода	острая фаза		период выздо- ровле- ния	серологи- ческий статус по- сле выздо- рования
			активная репликация вируса	конец фазы реп- ликации вируса		
4–12 нед	1–2 нед	2–3 нед — 3 мес		3–6 мес	годы	
ДНК	—	+	+	—	—	—
HBsAg	—	+	+	+	+/—	—
HBeAg	—	+	+	—	—	—
AntiHBc IgM	—	—	+	+	+/—	—
AntiHBc (суммарные)	—	—	+	+	+	+
AntiHBe (суммарные)	—	—	—	+	+	+/—
AntiHBs (суммарные)	—	—	—	—	—/+	+

На рисунках 3,4 представлены серологические профили для острого вирусного гепатита В с благоприятным исходом и хронического гепатита В, вызванного вирусом дикого типа.

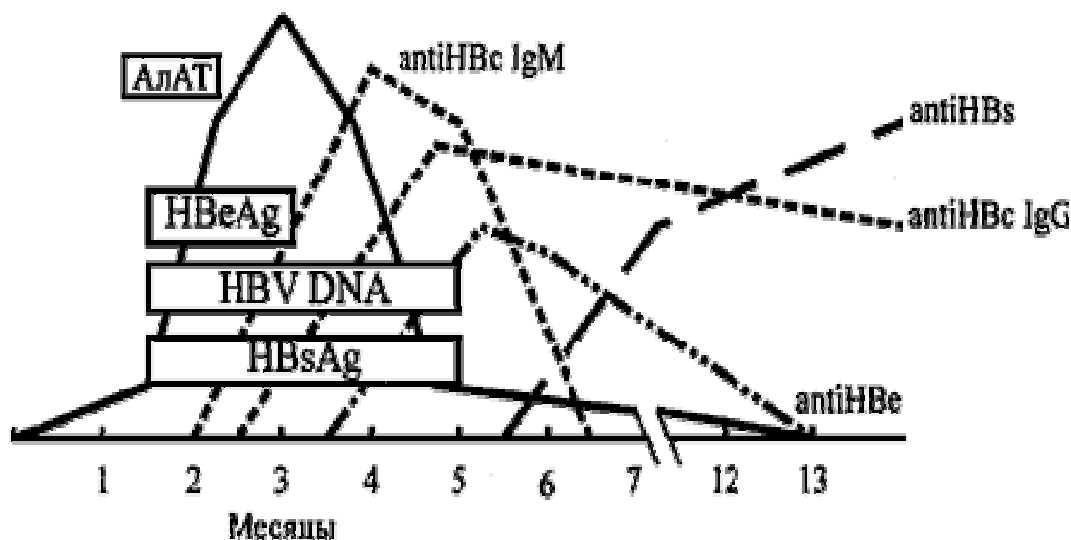


Рисунок 3 — Примерный серологический профиль, характерный для острого вирусного гепатита В с благоприятным исходом

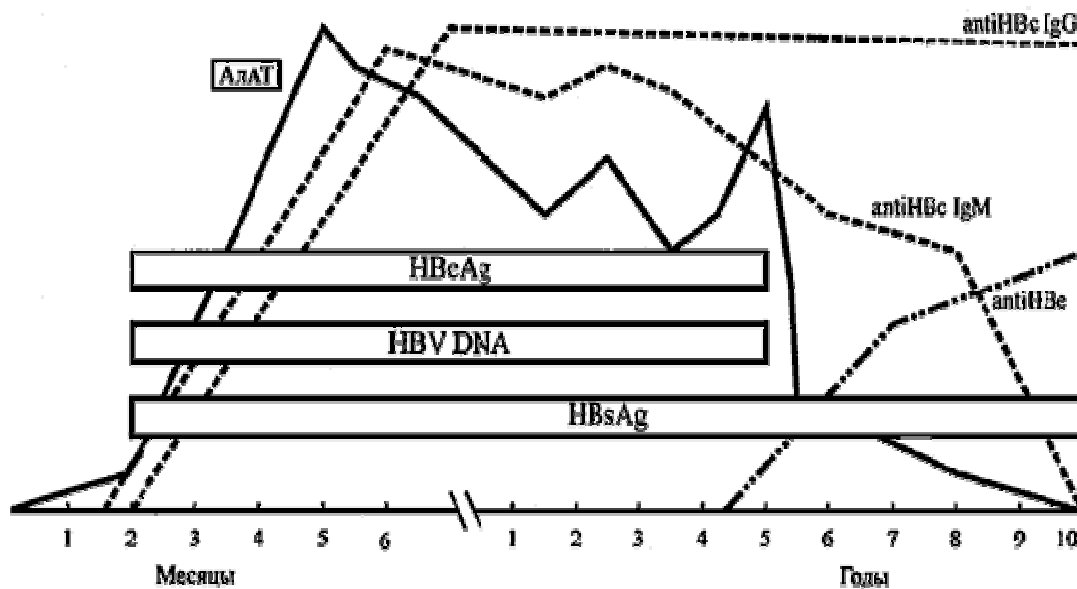


Рисунок 4 — Примерный серологический профиль, характерный для хронического гепатита В, вызванного вирусом дикого типа

Вирусный гепатит С (ВГС)

Вирус гепатита С выявлен относительно недавно, в 1989 году. Занимая небольшую долю среди других гепатитов (около 15%), ВГС обладает наибо-

лее высокой частотой хронизации (75–80%) и является основной причиной хронического гепатита, цирроза и первичного рака печени. Вирус гепатита С является гепатотропным и лимфотропным вирусом, относящимся к семейству *Flaviviridae*, представляя в нем третий самостоятельный род.

Характерными особенностями ВГС-инфекции являются циркуляция вируса в минимальных концентрациях и высокая гетерогенность и изменчивость вируса, что, во-первых, является причиной его слабой иммуногенности, не приводящей к выработке полноценного протективного иммунитета и хронизации, и, во-вторых, невозможности, по крайней мере, в настоящее время, создания вакцины. Сравнительная частота хронизации ВГ:

- гепатит В — 5–10%;
- гепатит В+D — 60–70%;
- гепатит С — 75–85%.

Вирус гепатита С является РНК-содержащим флавивирусом диаметром 55–65 нм, покрытым липидсодержащей оболочкой. Геном его представлен одноцепочечной РНК, содержащей около 9500 нуклеотидов, и кодирует синтез вирусного протеина-предшественника, который затем расщепляется клеточными пептидазами и вирусными протеазами на структурные и неструктурные белки. К структурным протеинам относятся сердцевинный (нуклеокапсидный) белок (Сor) и оболочечные белки Е1 и Е2. К неструктурным — белки с ферментативной активностью, необходимые для репликации вируса NS1, NS2, NS3, NS4A, NS4B, NS5A и NS5B. К каждому из этих белков вырабатываются антитела, циркулирующие в крови.

Важной особенностью возбудителя ГС является его генетическая неоднородность. В процессе репликации вируса происходят ошибки в его генетическом строении, в результате образуется большое число разных генотипов, субтипов и квазивидов. Процесс постоянной мутации помогает вирусу противостоять иммунной системе организма, именно этот факт объясняет наличие большого числа людей с хроническим гепатитом. По классификации Simmonds разграничивают 11 типов (генотипы 1–11), подразделяющихся, в свою очередь, на 70 подтипов HCV, обозначаемых буквами (например: 1a, 1b, 1c). Считается, что для целей клинической практики необходимо различать следующие генотипы HCV: 1a, 1b, 2a, 2b и 3a. На территории РФ преобладают 1b и 3a генотипы.

Лабораторная диагностика HCV-инфекции основана на обнаружении специфических антител и определении РНК вируса. В отличие от ВГВ, в диагностике которого учитываются антигены и антитела, при гепатите С методом ИФА улавливаются только антитела, что связано с низкой концентрацией ВГС в крови.

Схема лабораторной диагностики ВГС

1. Первичное массовое обследование на ВГС — определение методом ИФА в сыворотке крови антител к вирусу класса IgG.
2. Определение спектра антител к отдельным протеинам ВГС.

3. Обнаружение в крови РНК ВГС, определение генотипа вируса и вирусной нагрузки.

1. Антитела к вирусу (anti-HCV tot)

Anti-HCV tot свидетельствуют о контакте пациента с вирусом и обнаруживаются как при остром, так и при хроническом гепатите. В большинстве случаев их наличие совпадает с присутствием в крови РНК HCV. Существует несколько поколений диагностических тест-систем для выявления anti-HCV tot, отличающихся своей чувствительностью и специфичностью (таблица 5).

Таблица 5 — Сравнение разных поколений диагностических иммуноферментных тест-систем для выявления антител к ВГС

Тест-система	Шифр фрагментов	Белок, содержащий данный фрагмент	Эффективность	Время выявления антител от начала желтухи
1 поколение	C100-3	NS3 и NS4	До 82,2%	30–90 дней
2 поколение	C100-3, C22, C33c	cor, NS3, NS4	До 97,5%	20–25 дней
3 поколение	C100-3, C22, C33c, NS5	cor, NS3, NS4, NS5	До 99,7%	7–10 дней
4 поколение*	C100-3, C22, C33c, NS5	cor, NS3, NS4, NS5	До 99,7%	7–10 дней
RIBA-3	C100-3, C22, C33c, NS5, e1, e2	cor, NS3, NS4, NS5, E1, E2	До 99,6%	до 7 дней

*Тест-системы 4-го поколения содержат синтетические и рекомбинантные вирусные антигены, размеры которых могут отличаться от фрагментов 3-го поколения.

Наиболее совершенны тест-системы 3-го и 4-го поколения, используемые в клинической практике начиная с 1995 года. Тест-системы 3-го и 4-го поколения позволяют выявить anti-HCV в 99,7% случаев. В некоторых случаях антитела к HCV могут не обнаруживаться, например, при запаздывании иммунного ответа, применении иммуносупрессивной терапии или иммуносупрессии на фоне онкологического заболевания, приема наркотических веществ и т.д. Очень редко наблюдаются ложноположительные результаты. Современные методы серодиагностики являются достаточно чувствительными и информативными, а их внедрение в практику повысило частоту выявления лиц, инфицированных ВГС. Однако наличие суммарных антител к HCV лишь констатирует факт контакта пациента с ВГС, но не позволяет судить ни об инфицированности, ни о репликации вируса, ни, тем более, о давности процесса либо его завершенности.

Поэтому положительный результат исследования обязательно должен быть проверен путем перестановки анализа в двух параллельных пробах. Если хотя бы одна из двух проб данной сыворотки при этом снова дает по-

ложительный результат, образец считают первично положительным и исследуют в подтверждающей ИФА тест-системе Анти-HCV СПЕКТР или на основе иммуноблота RIBA HCV SIA. Подтверждающая тест-система Анти-HCV СПЕКТР позволяет выявить антитела к нанесенным отдельно белкам вируса — core, NS3, NS4, NS5.

При остром ВГС из антител первыми появляются анти-HCV core, сначала IgM и вскоре IgG. Это происходит большей частью спустя 15–20 недель после заражения. Появление антител к неструктурным белкам вируса NS4 и NS5 может свидетельствовать о хронизации процесса.

При благоприятном исходе острого ГС с выздоровлением анти-HCV core IgM исчезают в ранние сроки (до двух месяцев), а анти-HCV core IgG продолжают циркулировать в крови в течение 1–4, реже 10–15 лет (рисунок 6). Это учитывается при установлении HCV-пастинфекции. Но наличие данных антител не предотвращает от повторного инфицирования ВГС.

Истинных реконвалесцентов после острого ГС не много, 15–20%. У значительной части больных острая фаза сменяется латентной с постепенным формированием хронического гепатита. При хроническом гепатите в крови закономерно обнаруживаются анти-HCV IgG ко всем протеинам вируса — core, NS3, NS4, NS5 (рисунок 7).

В службе крови всех стран тестирование донорской крови на наличие anti-HCV является обязательным. Выявление anti-HCV в пробе крови является бесспорным основанием для ее выбраковки. Необходимо иметь в виду, что вполне реально столкнуться с ложноотрицательными результатами диагностики вирусного гепатита С (на ранней стадии заболевания, когда антител еще нет). В 1999 году компаний США и Японии начали производство иммуноферментных тест-систем для выявления антигена вируса гепатита С. Такие диагностические наборы позволяют выявлять инфицированных доноров за несколько недель до появления в их крови антител к вирусу, т. е. в «серонегативный» период. Но метод анализа антигена HCV недостаточно чувствителен (1–2 пг/мл) и не позволяет выявить низкую репликацию вируса (ниже 10000–20000 МЕ/мл).

2. РНК вируса (HCV RNA)

РНК HCV обнаруживается методом полимеразной цепной реакции в сыворотке/плазме крови, лейкоцитах и пункционных биоптатах печени.

Обнаружение в сыворотке крови РНК HCV является золотым стандартом диагностики, характеризующим виремию, свидетельствующую о продолжающейся активной репликации HCV в гепатоцитах. Выявление вирусной РНК всегда указывает на текущую инфекцию. Однако существуют случаи, когда:

- на фоне высокого уровня противовирусных антител при остром гепатите С вирусная РНК может не выявляться, что не гарантирует ни ее появления в дальнейшем, ни перехода гепатита в хроническую форму;

- при хроническом гепатите С вирусемия может быть преходящей, в связи с этим вирусная РНК обнаруживается непостоянно;
- после перенесенной инфекции РНК может не выявляться, а противовирусные антитела продолжают определяться, в таком случае выздоровление должно быть подтверждено многократным отрицательным результатом определения вирусной РНК.

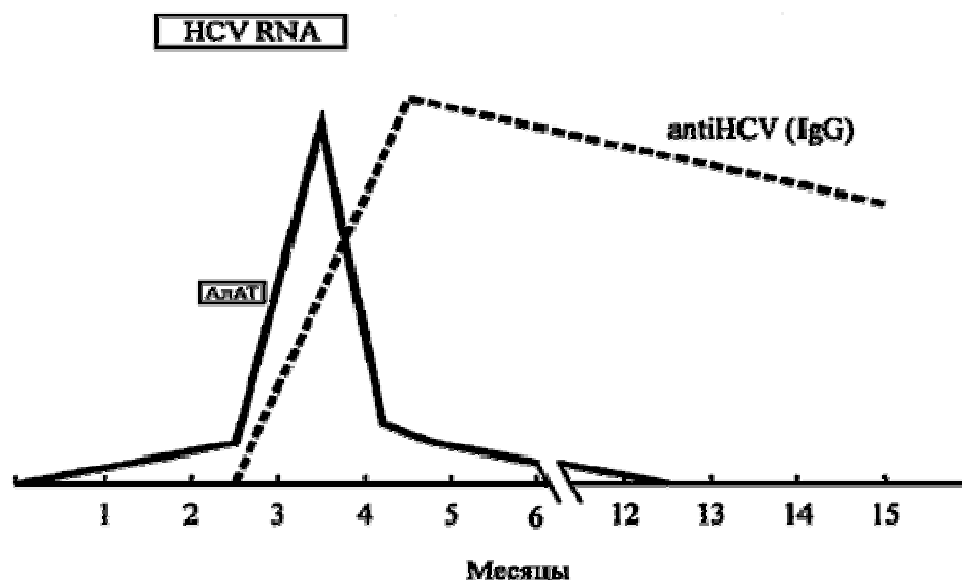


Рисунок 6 — Примерный серологический профиль, характерный для острого вирусного гепатита С с благоприятным исходом

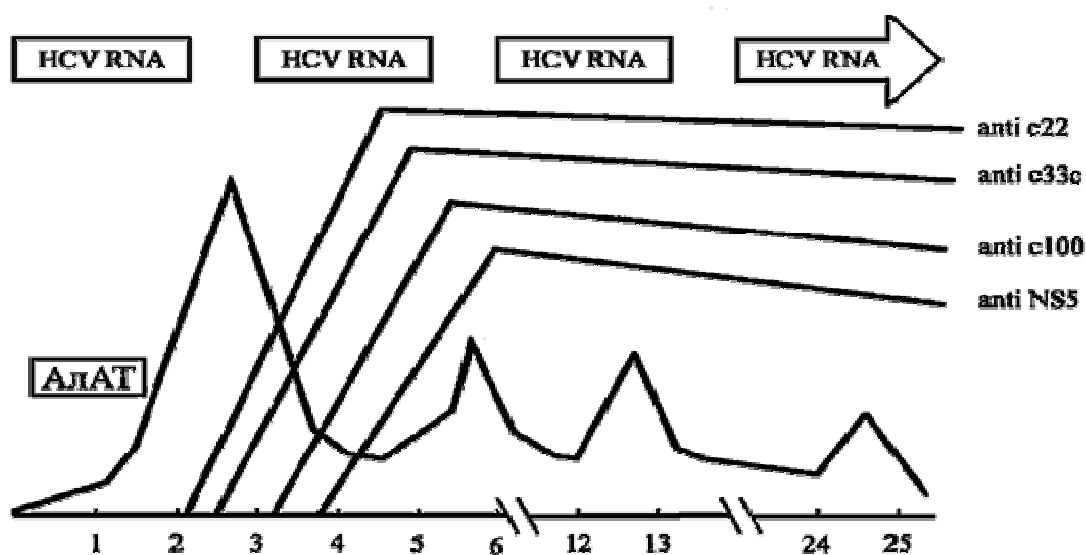


Рисунок 7 — Примерный серологический профиль, характерный для хронического вирусного гепатита С

Примечание. Последовательность появления антител к конкретным антигенам вируса (c22, c33c, c100, NS5) может быть иной.

Выявление РНК HCV является основанием диагноза гепатита С в случаях серонегативности, например, на ранней стадии инфекции (РНК HCV обнаруживается в сыворотке крови уже в течение первой недели после инфицирования) а также у пациентов с иммунодепрессией, у которых антителогенез подавлен. Качественный ПЦР-анализ на РНК ВГС необходим также для мониторинга противовирусной терапии, так как исчезновение вирусной РНК в процессе лечения является одним из критериев его эффективности.

Количественное определение РНК HCV (вирусной нагрузки) необходимо для выбора схемы противовирусной терапии, прогноза и мониторинга ее эффективности.

Факты в пользу определения вирусной нагрузки HCV:

1. Концентрация вируса в крови влияет на тактику лечения. Высокие показатели вирусной нагрузки (более 2 000 000 копий РНК/мл или приблизительно 500 000 МЕ/мл) являются показателем неблагоприятного прогноза в отношении эффективности терапии. Поэтому пациентам с высокой вирусной нагрузкой рекомендуется назначение комбинированной и продолжительной противовирусной терапии.

2. Виремия может быть преходящая или стабильно низкая, поэтому необходим более чувствительный метод. Порог чувствительности количественной ПЦР в 10 раз выше, чем порог чувствительности качественной ПЦР.

3. Уровень виремии служит не только важным прогностическим признаком эффективности лечения, поэтому точное определение исходной концентрации вирусной РНК имеет исключительно большое значение:

- гепатит считается излеченным, если достигается устойчивый вирусологический ответ, то есть через 12 месяцев после завершения противовирусной терапии тест на вирусную РНК остается отрицательным;
- предвестником излечения служит ранний вирусологический ответ — уменьшение концентрации вирусной РНК не меньше чем в 100 раз или исчезновение вируса из крови в первые 12 недель лечения;
- если отрицательный результат теста на вирусную РНК зафиксирован по завершении терапии, говорят об ответе в конце лечения;
- когда вирусная РНК вновь появляется после отмены препаратов, считается, что у больного рецидив;
- если в ходе лечения концентрация вируса гепатита С остается неизменной, это свидетельствует об отсутствии ответа на лечение; если виремия снижается (например, более чем в 100 раз), но вирус продолжает определяться в крови — о частичном ответе на лечение.

В настоящее время широко применяются два вида тестов для определения вирусной нагрузки. Оба метода направлены на обнаружение РНК вируса гепатита С.

1. Количественная ПЦР (Q-PCR, Real-time PCR). Этот тест является очень чувствительным, позволяет определять вирусную нагрузку до 50 МЕ/мл. Метод основан на измерении РНК посредством флуоресцентного сигнала в ка-

ждом цикле амплификации. Измерение количества РНК проводится в специальных приборах (Real-time машины). Интенсивность сигнала пропорциональна концентрации конечного продукта ПЦР на момент измерения. С помощью специального программного обеспечения, основываясь на данных, собранных за 40–45 циклов ПЦР, прибор просчитывает концентрацию РНК в миллилитрах.

2. Метод разветвленной ДНК (b-DNA). Чувствительность данного метода значительно ниже, сравнима с качественной ПЦР, позволяет измерять вирусную нагрузку порядка 500 МЕ/мл.

Вирусная нагрузка бывает высокой и низкой и в целях стандартизации выражается в Международных единицах на мл (МЕ/мл):

- высокая — более 500 000 МЕ/мл
- низкая — менее 500 000 МЕ/мл.

Информацию для пересчета из МЕ/мл в копии/мл (или наоборот) предоставляет тестирующая лаборатория, так как стандартной формулы не существует. Уровни РНК HCV при хронической инфекции весьма вариабельны и варьируют от 5000 до 25 000 000 МЕ/мл. Однако у конкретного пациента уровни РНК HCV относительно стабильны. При низкой репликации определить концентрацию вирусной РНК иногда не удастся (если вирусная нагрузка находится ниже порогового уровня, который составляет 10–50 МЕ/мл).

Методом ПЦР возможно также определение генотипов ВГС: 1a, 1b, 1c, 2a, 2b, 2c, 3a, что необходимо для выбора схем противовирусной терапии. При инфицировании 2 либо 3 генотипом вируса доза препарата ниже и продолжительность лечения может быть меньше, чем при 1 генотипе. При 1b генотипе рекомендуется комбинированная противовирусная терапия двумя препаратами. При инфицировании более чем одним генотипом вируса ответ на лечение и течение болезни будет иным, чем при инфицировании одним генотипом.

Причины ложных реакций при определении РНК HCV в ПЦР

Ложноотрицательные реакции:

- потеря или разрушение РНК HCV в ходе подготовки к реакции клинического материала;
- наличие в образце ингибиторов ПЦР;
- некомплементарность праймера с матрицей генома вследствие вариабельности РНК HCV;
- несоблюдение режима хранения и транспортировки клинического материала.

Ложноположительные реакции:

- контаминация материала продуктами амплификации;
- загрязнение отдельных образцов при проведении реакции.

Вирусный гепатит дельта (ВГД)

Вызывается вирусом (HDV) диаметром 36 нм, который по своим функциональным характеристикам схож с вирионами растений; он не образует полноценных вирионов сам по себе и использует HBsAg для формирования своей оболочки. Он не способен вызывать инфекционный процесс самостоятельно, так как, будучи дефектным, *in vivo* требует для своего жизненного цикла наличия вируса-помощника (вируса гепатита В). Таким образом, полноценный вирус D состоит из РНК, внутреннего антигена (HDAg) — собственно ВГД — и его внешней оболочки, состоящей из HBsAg. Поэтому ВГД встречается только у лиц, инфицированных вирусом гепатита В. В структуре HDV нет собственной полимеразы и ее функции, как полагают, компенсирует клеточная полимераз.

Вирус содержит кольцевидную РНК, состоящую примерно из 1700 нуклеотидов. Геном HDV кодирует синтез белка, состоящего из двух компонентов (малого — 155 аминокислот и большого — 214 аминокислот). Описаны три генотипа HDV с различиями аминокислотного состава их белков примерно на 30%.

Коинфекция — одновременное инфицирование двумя вирусами В и D (микст-гепатит В+D). Вероятность хронизации достигает 60–70%. По сравнению с суперинфекцией имеет более благоприятный прогноз вследствие возможности полного выздоровления. Клиническая картина отличается от чистого гепатита В большей частотой фульминантного гепатита (приблизительно треть случаев фульминантного гепатита вызвана HDV-инфекцией), большей длительностью заболевания и двухволновым течением, при этом второй пик обусловлен репликацией HDV.

Суперинфекция — к уже имеющемуся ВГВ присоединяется ВГД. Суперинфекция значительно ухудшает клиническое течение и прогноз хронического ВГВ. Формирование цирроза происходит очень быстро с летальным исходом в течение нескольких лет.

Маркеры инфекции

1. Антиген вируса (HDVAg)

Обнаружение HDVAg указывает на фазу активной репликации вируса в тканях печени. При острой дельта-инфекции HDVAg циркулирует в крови недолго, хотя в гепатоцитах может продолжаться его синтез. При хронической дельта-инфекции HDVAg выявляется как в гепатоцитах (при биопсии), так и в сыворотке крови в течение длительного времени.

HDVAg может быть выявлен методами иммуноферментного, радиоиммунологического анализа или иммуноблота. В последнем случае достоверность анализа выше, поскольку HDVAg с помощью специальной обработки перед постановкой иммуноблота отделяется от специфических антител. Тем самым снижается риск ложноотрицательных результатов, характерных для других методов исследования (невывявление HDVAg, находящегося в составе иммунных комплексов).

2. Антитела к вирусу класса М (anti-HDV IgM).

Являются маркерами активной репликации HDV. При остром гепатите дельта (коинфекции D+B) они впервые обнаруживаются на 10–15-й день заболевания и исчезают из крови через 2–3 месяца с начала периода разгара (рисунок 8). Длительное сохранение anti-HDV IgM в высоких титрах при остром ВГД свидетельствует о формировании хронического ВГД. При хроническом гепатите (суперинфекция вирусом дельта) anti-HDV IgM циркулируют месяцами вследствие длительно продолжающейся репликации вируса (рисунок 9).

3. Антитела к вирусу класса G (anti-HDV IgG).

Являются маркерами перенесенного острого или хронического гепатита дельта. При острой дельта-инфекции появляются на 5–9-й неделе заболевания, циркулируют в течение нескольких месяцев. У больных хроническим ВГД anti-HDV IgG выявляются постоянно в высоких титрах.

У больных дельта-гепатитом определяются и маркеры HBV-инфекции. При коинфекции определяются маркеры острой HBV-инфекции: HBsAg, HBeAg, anti-HBcor IgM, ДНК HBV, причем они могут быть найдены уже в инкубационном периоде до появления серологических маркеров инфицирования дельта-вирусом.

При суперинфекции дельта-вирусом носителей HBsAg и больных хроническим ВГВ определяются маркеры хронической HBV-инфекции в зависимости от ее стадии (в стадии репликации HB-вируса определяются HBsAg, HBeAg, anti-HBcor IgM, anti-HBcor IgG, ДНК HBV; в стадии интеграции HBV определяются HBsAg, anti-HBe, anti-HBcor IgG).

Следует отметить, что дельта-вирус может оказывать супрессивное (подавляющее) действие на репликацию HBV, поэтому титр HBsAg, ДНК HBV и других маркеров HBV-инфекции может снижаться, в том числе и до не выявляемого с помощью используемых в практическом здравоохранении методов уровня.

Имеются различия в течении и исходах хронического гепатита дельта в зависимости от уровня репликации HDV и HBV. У лиц с активной репликацией HDV и HBV (в крови тестируется HBsAg, anti-HBcor IgM, HBeAg, anti-HDV IgM) преобладает гепатит с умеренной степенью активности. У больных с активной репликацией HDV и отсутствием или низким уровнем репликации HBV (в крови обнаруживаются HBsAg, anti-HBcor IgG, anti-HBe, anti-HDV IgM,) чаще развивается тяжелое поражение печени — гепатит с выраженной степенью активности или гепатит с формированием цирроза.

4. РНК вируса (HDV RNA)

РНК дельта-вируса (РНК HDV) определяется в гепатоцитах и сыворотке крови параллельно с HDVAg и некоторое время после его исчезновения. Наличие РНК HDV свидетельствует об активной репликации вируса гепа-

тита дельта, коррелирует с наличием дельта-антигена в печени и совпадает с максимумом воспалительно-некротических изменений в печени. При острой дельта-инфекции выявляется более высокий уровень содержания РНК HDV в сыворотке крови по сравнению с хронической дельта-инфекцией. Тест полезен при динамическом наблюдении больных хроническим гепатитом, особенно при проведении противовирусной терапии. Возможно полуколичественное определение HDV RNA путем визуального сравнения с параллельно анализируемым рядом серийных разведений стандарта.

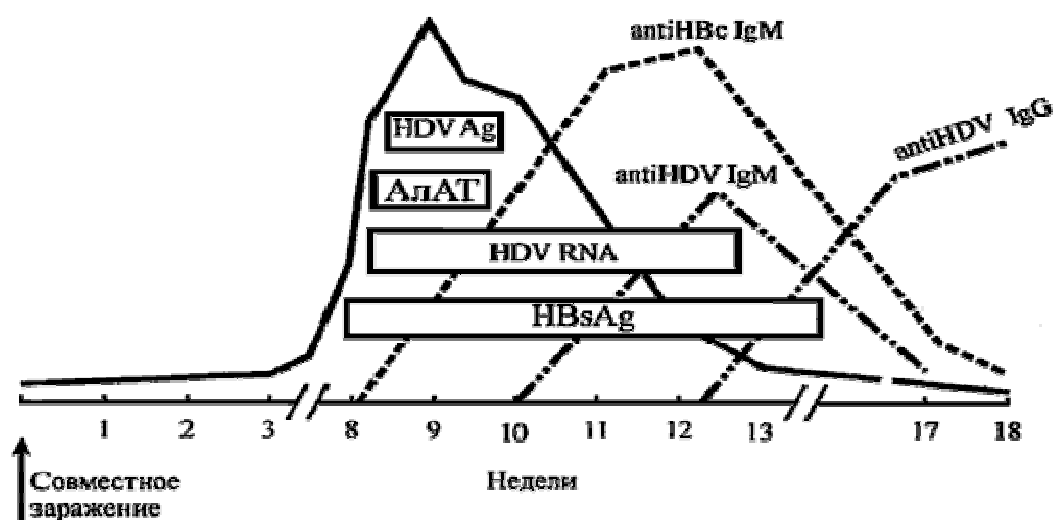


Рисунок 8 — Примерный серологический профиль, характерный для коинфекции вирусами D и B

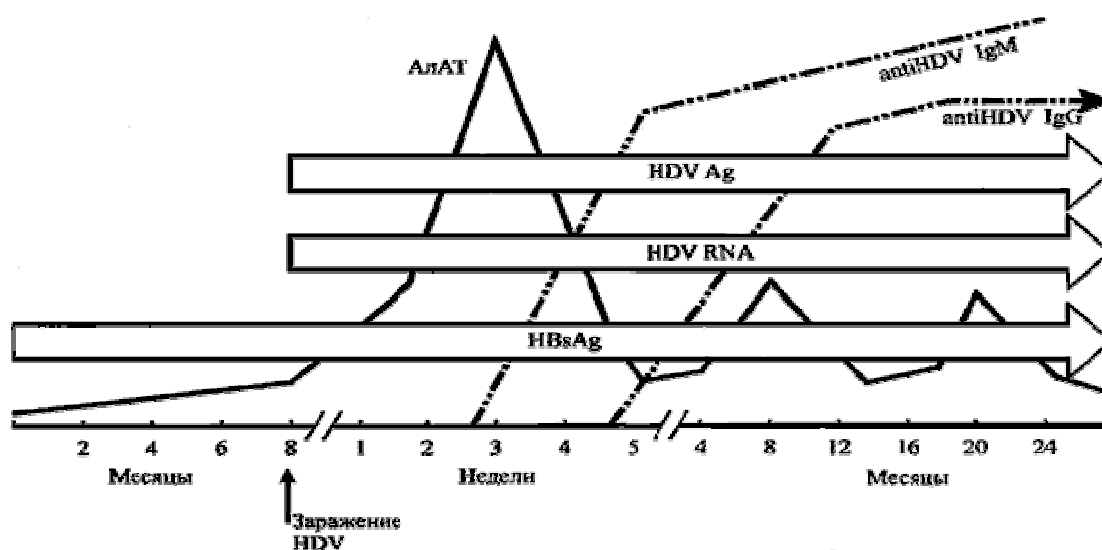


Рисунок 9 — Примерный серологический профиль, характерный для суперинфекции вирусом D с исходом в хронизацию

Вирусный гепатит Е (ВГЕ)

Вирусный гепатит Е вызывается представителем семейства калицивирусов. Геном его представлен одноцепочечной РНК, объединяющей три открытых рамки считывания, которые кодируют: первая — ферменты вируса (РНК-зависимую РНК-полимеразу, РНК-хеликазу, метилтрансферазу и папаиноподобную протеазу); вторая — структурные белки, и третья — трансмембранный белок, необходимый для внедрения вируса в клетку.

Маркеры инфекции

1. Антитела к вирусу класса М (anti-HEV IgM)

Появляются в крови через 3–4 недели после заражения и исчезают через несколько месяцев. Являются показателем острой фазы заболевания.

2. Антитела к вирусу класса G (anti-HEV IgG)

Преобладают на стадии выздоровления с нарастанием титра до высоких значений в течение нескольких месяцев. Как и в случае гепатита А, наличие только anti-HEV IgG не является подтверждением диагноза вирусного гепатита Е; диагноз может быть поставлен при одновременном обнаружении anti-HEV IgM. Неизвестно, предотвращают ли anti-HEV IgG возможное последующее повторное заражение вирусом.

3. РНК вируса (HEV RNA)

Появляется в крови через 2–3 недели после заражения. Вирусемия свидетельствует о факте инфекции и длится около 2 недель.

Вирусный гепатит G (ВГГ)

Вирусный гепатит G вызывает вирус из семейства флавивирусов. Имеет несколько разновидностей. Источник заражения — больные вирусным гепатитом G и его носители. Пути передачи этого вируса — половой, парентеральный, трансплацентарный (от матери ребенку). Очень часто этот вид гепатита встречается у наркоманов.

Вирусный гепатит G может протекать с нормальными показателями биохимических параметров крови. От момента заражения до начала заболевания может пройти от двух недель до полугода. Чаще всего вирусный гепатит G протекает стерто или совсем без каких-либо жалоб и изменений биохимических параметров крови. Процент хронизации инфекции ниже, чем при вирусных гепатитах В и С. Достаточно часто вирусный гепатит G протекает в виде коинфекции, когда он присоединяется к вирусному гепатиту В, С или Д. При этом тяжесть заболевания не изменяется.

Маркер инфекции

Диагностика вирусного гепатита G возможна при лабораторном исследовании: выявляют генетический материал вируса (РНК) в крови пациента при помощи полимеразной цепной реакции (ПЦР).

БИОХИМИЧЕСКИЕ СИНДРОМЫ ПОРАЖЕНИЯ ПЕЧЕНИ

1. Цитолитический синдром

Относится к основным показателям активности патологического процесса в печени. Он проявляется повышением активности печеночных ферментов (аланиновой аминотрансферазы, аспарагиновой аминотрансферазы, гамма-глутамилтранспептидазы, фруктозо-1-фосфатаальдолазы, лактатдегидрогеназы IV и V, глутаматдегидрогеназы и др.) и уровня сывороточного железа.

В гепатологической практике для диагностики цитолитического синдрома принято определять активность аланиновой (АлАТ) и аспарагиновой (АсАТ) аминотрансфераз. В гепатоцитах АлАТ имеется преимущественно в виде цитоплазматической фракции, а АсАТ — в виде митохондриальной. Исходя из этого, наибольшее значение в диагностике поражений печени придается активности АлАТ. АлАТ — самый чувствительный показатель цитолиза. **Для острого вирусного гепатита характерно увеличение активности АлАТ более чем в 10 раз (обычно в 20–50 раз).** Следует отметить, что активность АлАТ увеличивается уже в продромальном периоде и может быть использована для ранней диагностики.

При хроническом гепатите АлАТ повышается в меньшей степени. По уровню АлАТ судят об активности процесса — минимальным считается повышение от 1 до 3 норм, умеренным — от 3 до 10 норм, высоким — выше 10 норм.

В настоящее время существует множество тест-систем для определения уровня АлАТ и АсАТ. Для того чтобы не переводить различные значения друг в друга и характеризовать ферментемию больного, в клинической практике используется относительная величина — 1 норма (N) (например, активность АлАТ — 22 N).

Следует отметить, что из перечисленных ферментов специфическим печеночным ферментом является лишь фруктозо-1-фосфатаальдолаза, так как он содержится только в клетках печени. Однако вследствие высокой стоимости реактивов он не нашел применения в практическом здравоохранении. Уровень сывороточного железа для обнаружения цитолитического синдрома также исследуется очень редко, имея больше теоретическое значение. Гамма-глутамилтранспептидаза (γ -ГТП) может значительно повышаться при алкогольном гепатите.

2. Холестатический синдром

Холестатический синдром — клинико-лабораторный симптомокомплекс, вызванный нарушением оттока желчи. Клинические проявления холестатического синдрома включают синдром желтухи, обесцвечивание кала и кожный зуд.

Лабораторным подтверждением холестатического синдрома является повышение уровня билирубина преимущественно за счет конъюгированной фракции, щелочной фосфатазы (фракция, синтезируемая эндотелиоцитами желчных протоков), 5-нуклеотидазы, γ -ГТП, β -липопротеидов, холестерина. Щелочная фосфатаза является высокочувствительным тестом, а 5-нуклео-

тидаза — более специфическим, т.к. располагается преимущественно в желчных капиллярах и гепатоцитах. При остром вирусном гепатите активность щелочной фосфатазы остается нормальной или слегка повышается, при холестатическом варианте возрастает в 5–10 раз.

На уровень γ -ГТП, билирубина большое влияние оказывает цитолиз. В зависимости от значений общего билирубина определяют тяжесть состояния больного: легкая степень тяжести — до 85, средняя — до 170, тяжелая — более 170 мкмоль/л.

3. Мезенхимально-воспалительный синдром

Мезенхимально-воспалительный синдром — клинико-лабораторный симптомокомплекс, включающий такие проявления как субфебрильная температура и артралгии. Отражает активность лимфоцитов, плазматических клеток и макрофагов, входящих в воспалительные инфильтраты, прежде всего портальных трактов печени. Лабораторные изменения характеризуются повышением показателей тимоловой пробы, сулемовой пробы, увеличением относительного содержания γ -глобулинов в сыворотке. Нормальные показатели тимоловой пробы — 1–4 ед, γ -глобулинов — до 21%. Тимоловая и сулемовая пробы выявляют диспротеинемию вследствие снижения альбуминов и повышения крупнодисперсных γ -глобулинов в сыворотке крови. Значительное повышение тимоловой пробы наблюдается при вирусном гепатите А, вирусном гепатите D и при циррозах печени.

4. Гепатодепрессивный синдром

Развивается при тяжелых или фульминантных гепатитах. Отражает степень выраженности печеночно-клеточной недостаточности. Клинически он проявляется синдромом печеночной энцефалопатии и геморрагическим синдромом. Лабораторные критерии тяжести процесса отражают снижение белоксинтетической функции печени и представлены следующими изменениями:

- Снижение протромбинового индекса.
- Снижение содержания общего белка и альбумина.
- Снижение содержания фибриногена.
- Снижение содержания холестерина, β -липопротеидов, глюкозы.
- Соотношение неконъюгированный/конъюгированный билирубин —

1/1 и выше.

— Нарастание в биохимическом анализе крови общего билирубина за счет непрямой фракции на фоне падения уровня АлАТ (синдром билирубино-ферментной диссоциации).

Наиболее часто используются протромбиновый индекс и альбумин — пробы средней чувствительности. Снижение индикаторов гепатодепрессии средней чувствительности на 10–20% относится к незначительной, на 21–40% — к умеренной, более чем на 40% — к значительной степени печеночно-клеточной недостаточности. Концентрация общего белка в сыворотке крови незначительно снижается только при тяжелых формах острых вирусных гепатитов и более выражено при хронических заболеваниях печени.

ЛИТЕРАТУРА

1. Актуальные аспекты вирусных гепатитов: учебно-метод. пособие / И. А. Карпов [и др.]. — М., 2002. — 46 с.
2. Богомолов, Б. П. Диагностика и лечение вирусного гепатита С / Б. П. Богомолов, М.К.Костюнина // Клиническая медицина. — 1997. — № 9. — С. 62–64.
3. Использование полимеразной цепной реакции в обнаружении гепатита С / Н. А. Федоров [и др.] // Рос. журн. гастроэнтерол., гепатол., колопроктол. — 1995. — № 4. — С. 23–27.
4. Лок, А. С. Ф. / Хронический гепатит В: практические рекомендации Американской ассоциации по изучению заболеваний печени / А. С. Ф. Лок, Б. Дж. МакМахон // Клиническая микробиология и антимикробная терапия. — 2002 — № 2 — С. 164–193.
5. Львов, Д. К. Вирусные гепатиты от А до G и далее / Д. К. Львов // Журнал микробиологии. — 1997. — № 1. — С. 70–77.
6. Майер, К. П. Гепатит и последствия гепатита / К. П. Майер. — М. : Гэотар Медицина, 1999. — 432 с.
7. Михайлов, М. И. Лабораторная диагностика гепатита С (Серологические маркеры и методы их выявления) / М. И. Михайлов // Вирусные гепатиты: достижения и перспективы. Инф. бюл. — 2001. — № 2 (12). — С. 8–18.
8. Подымова, С. Д. Болезни печени / С. Д. Подымова. — М. : Медицина, 1998. — 704 с.
9. Соринсон, С. Н. Вирусные гепатиты / С. Н. Соринсон. — СПб. : ТЕ-ЗА, 1997. — 306 с.
10. Шерлок, Ш. Заболевания печени и желчных путей: Практич. рук. (Пер. с англ.) / Ш. Шерлок, Дж. Дули. — М. : Гэотар Медицина, 1999. — 864 с.
11. Pawlotsky, J. M. Molecular diagnosis of viral hepatitis // Gastroenterology. — 2003. — Vol. 122. — P. 1554–1568.

Учебное издание

Демчило Антонина Павловна

**ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА
ВИРУСНЫХ ГЕПАТИТОВ**

Учебно-методическое пособие
по инфекционным болезням
для студентов медицинских вузов

Редактор Т. Ф. Рулинская
Компьютерная верстка Ж. И. Цырыкова

Подписано в печать 28. 01. 2008
Формат 60×84¹/₁₆. Бумага офсетная 65 г/м². Гарнитура «Таймс»
Усл. печ. л. 1,86. Уч.-изд. л. 2,03. Тираж 100 экз. Заказ № 45

Издатель и полиграфическое исполнение
Учреждение образования
«Гомельский государственный медицинский университет»
246000, г. Гомель, ул. Ланге, 5
ЛИ № 02330/0133072 от 30. 04. 2004