

**Институт средств медицинской диагностики
ЗАО «Вектор-Бест»**

О.Н. Ястребова

ГЕПАТИТ С

Информационно-методическое пособие

Новосибирск
2003

ББК 28
Я85

Я85 **Ястребова О.Н.**
Гепатит С. – Новосибирск: ЗАО «Вектор-Бест». 2003. – 44 с.

Уважаемые коллеги!

В брошюре приводятся обобщенные литературные данные по эпидемиологии, клинике, диагностике и другим аспектам инфекции, вызываемой вирусом гепатита С. Особое внимание уделено проблемам диагностики гепатита С. Учитывая многолетний опыт работы ЗАО «Вектор-Бест» с широким кругом потребителей, обсуждаются наиболее важные моменты, влияющие на результат ИФА.

Данное методическое пособие предназначено для врачей-лаборантов и врачей-инфекционистов.

Гепатит С. Этиология

После того как в 70-х годах XX века были выделены возбудители гепатитов А и В, и, с внедрением в гемотрансфузионную практику тестирования на HBsAg, стало очевидным существование других вирусных гепатитов, которые стали называть гепатитами не А ни В. В 1989 году удалось идентифицировать возбудителя не А ни В гепатита с парентеральным механизмом передачи. Его назвали вирусом гепатита С (ВГС).

ВГС относится к семейству Флавивирусов, представляет собой небольшой (40–50 нм в диаметре), покрытый оболочкой вирус (рис. 1). Геном представлен одноцепочечной положительно заряженной РНК, содержащей около 10 000 нуклеотидов, которая кодирует 3 структурных и 5 неструктурных белков вируса (рис. 2). К структурным относятся нуклеокапсидный белок (С, *core*) и гликопротеины оболочки (E_1 – E_2). Неструктурную область представляет комплекс белков с ферментативной активностью (NS_1 , NS_2 , NS_3 , NS_4 , NS_5). Наиболее консервативны С-протеин и NS_5 , гипервариабельны белки внешней оболочки E_1 , E_2 и NS_1 . К каждому из белков вирусного полипротеина, структурных и неструктурных, вырабатываются антитела (анти-ВГС), обнаруживаемые в крови.

Отличительной особенностью вируса гепатита С является его значительная изменчивость с образованием множества одновременно существующих, иммунологически различающихся антигенных вариантов – квазивидов. Вариабельность генома ВГС

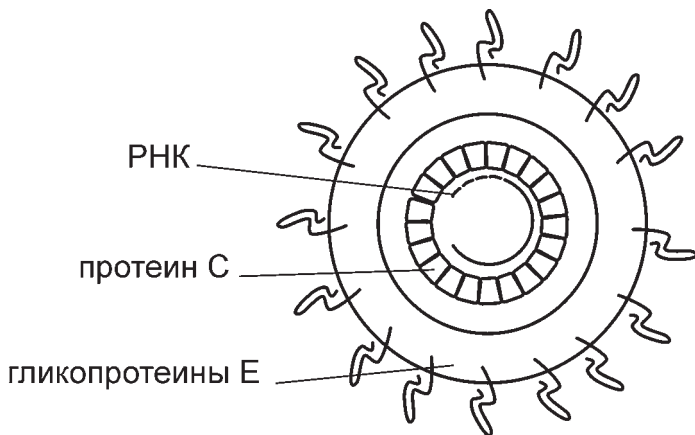


Рис.1. Схема структуры вируса гепатита С

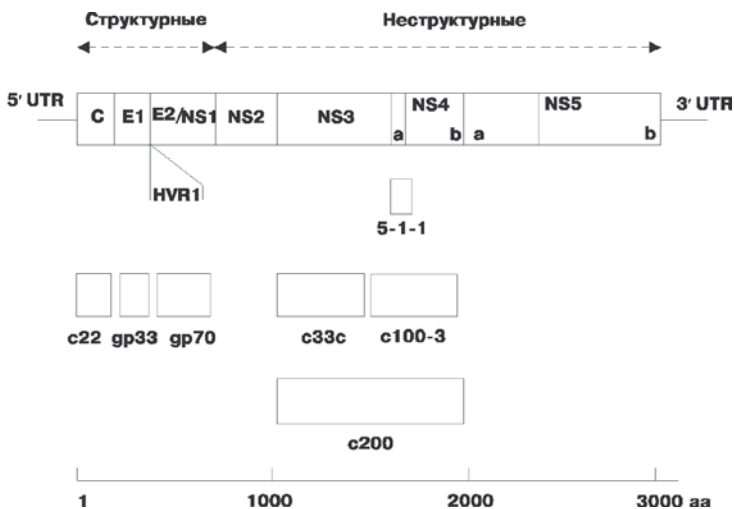


Рис. 2. Схема организации генома вируса гепатита С

рассматривается на трех уровнях: 1 уровень составляют генотипы (гомология около 70%), 2 уровень – субтипы (гомология от 77 до 80%), 3 уровень – изоляты (гомология от 91 до 99%), среди которых различают квазивиды (рис. 3).

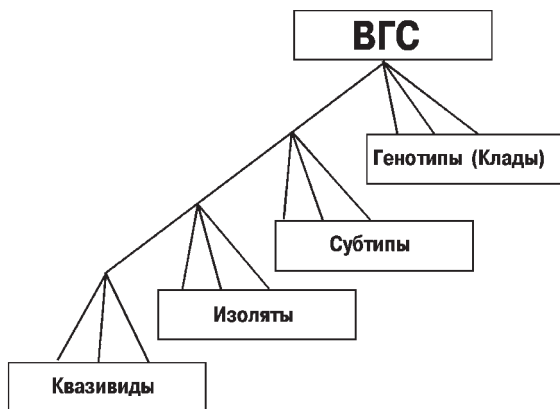


Рис.3. Уровни генетической варибельности вируса гепатита С (приведено по Okamoto, 1994).

Квазивиды – это генетически близкородственные варианты одного и того же изолята ВГС, которые возникают в результате мутаций в ходе репликации вируса в организме-хозяине. Квазивиды имеют большое биологическое значение, они могут быть причиной неспособности организма-хозяина самостоятельно элиминировать возбудитель на ранней стадии. В дальнейшем образование квазивидов в течение всего периода заболевания приводит к ускользанию от иммунного ответа, а также к формированию резистентности к противовирусным препаратам и персистенции ВГС.

В связи с этим не исключается возможность повторного инфицирования.

Занимая скромную долю среди других острых вирусных гепатитов (~15–20%), гепатит С (ГС) обладает наиболее высокой степенью хронизации (рис. 4). Протекая бессимптомно, долгие годы остающейся нераспознанной, именно ВГС-инфекция является основной причиной формирования всей группы хронических болезней печени – хронического гепатита, цирроза, гепатоцеллюлярной карциномы.

Поэтому академик Д.К. Львов назвал ВГС «ласковым убийцей».

В настоящее время за основу принята классификация, предложенная Р. Simmonds (1993 г.). Согласно этой классификации выделяют 6 генотипов, пронумерованных от 1 до 6 в порядке их открытия; более 80 субтипов, обозначаемых прописными латинс-

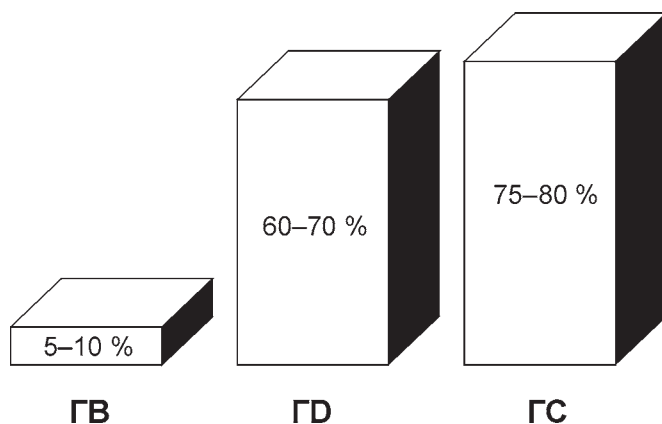


Рис.4. Сравнительная частота хронизации при ВГВ -, ВГД-, ВГС - инфекциях

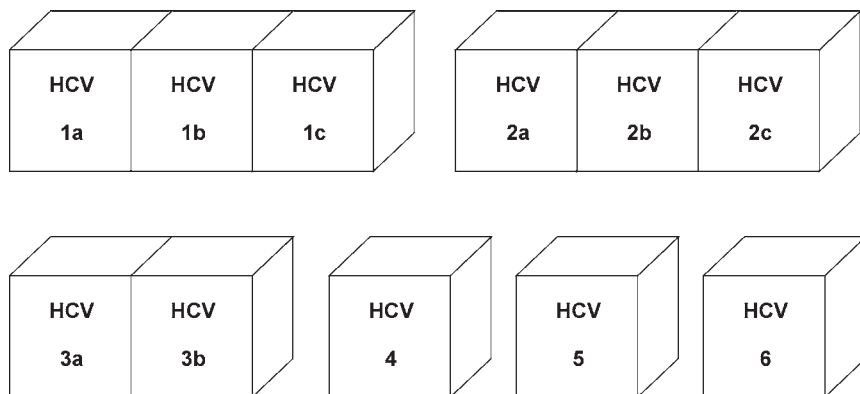


Рис.5. Генотипы вируса гепатита С (классификация Р. Simmonds, 1993 г.)

кими буквами (а, b, с и т.д.). Показано, что наибольшее распространение в мире имеет генотип 1b. Этот же генотип хуже всего отвечает на интерферонотерапию.

Известно, что генотипы 1, 2 и 3 получили наибольшее распространение, при этом тот или иной их субтип доминирует в разных географических зонах. Субтип 1а доминирует в Северной Европе и Северной Америке, тогда как субтип 1b – в Японии, Южной и Восточной Европе, преобладает в Азии.

Генотип 2 встречается в этих странах значительно реже по сравнению с генотипом 1. При этом субтипы 2а и 2b характерны для Северной Америки, Европы и Японии, а субтип 2с – для Италии.

ВГС генотипа 3 наиболее эндемичен в Юго-Восточной Азии, Тайланде, Индии, Пакистане. Субтип 3а занимает второе место по частоте выявления на большей части Европы, США, при этом им инфицированы в основном пациенты моложе 20 лет, в частности, лица, внутривенно употребляющие наркотические средства.

Генотипы 4, 5 и 6 имеют более локальное распространение. Генотип 4 – основной тип ВГС в Центральной и Северной Африке и на Среднем Востоке. Генотип 5 распространен исключительно по Южной Африке, а генотип 6 широко представлен во Вьетнаме, Гонконге и Китае.

В Российской Федерации чаще всего выявляются генотипы 1b и 3а, встречаются также 1а и 2а.

Распространенность

ВГС широко распространен в человеческом обществе. По оценкам различных авторов число инфицированных вирусом составляет 200-300 млн. человек, что составляет 3–4,5% населения земного шара. Гепатит С (ГС), подобно гепатиту В (ГВ), имеет повсеместное, но не равномерное, распространение. По данным Национальных служб здоровья, ежегодно в США регистрируется от 150 до 175 тыс. новых случаев гепатита С, в Западной Европе – 170 тыс., в Японии – более 350 тыс. заболеваний.

Частота обнаружения маркеров ВГС среди доноров крови варьируется от 0,01–0,2% в странах Северной Европы до 0,5–1,2% в Южной Европе, 3–6% в Японии и 10–20% в странах Африканского континента. В России – 1–5%; более высокий процент в районах Сибири и Дальнего Востока. В Прибалтике – 1–3%; в бывших республиках Средней Азии и Молдове – 5–12%.

К особенностям распространения ГС можно отнести существенно меньшую полярность показателей в развивающихся и высокоразвитых странах. Зоны распространения ГС, сравнительно с ГВ, не столь очерчены, что можно поставить в зависимость от широкого распространения наркомании не только в развивающихся, но и в высокоразвитых странах мира и особой уязвимости наркоманов в отношении вероятности заражения ВГС-инфекцией. Во многих странах Западной Европы и Японии распространенность ГС оказалась существенно большей, чем ВИЧ-инфекции. Вместе с тем, вероятность посттрансфузионного заражения ВГС-инфекцией в США за последние годы резко снизилась (с введением скрининга всей донорской крови на анти-ВГС) и, за исключением больных гемофилией, не превышает 4–5%.

Источники инфекции. Пути передачи. Факторы риска

Природного резервуара вируса не существует. Известно, что кроме человека гепатитом С болеют только шимпанзе. Источниками ВГС являются больные всеми формами острого и хронического ГС. Вирус попадает в кровь при любых парентеральных манипуляциях: гемотрансфузии, инъекциях, при посещении стоматолога и гинеколога, оперативном вмешательстве, зондовом обследовании и т.д. К группе риска (рис. 6) относятся больные, находящиеся на гемодиализе (инфицированность составляет 25–50%), страдающие гемофилией (70–80%) и другими заболеваниями крови, получаю-

щие плазму, гемоконцентраты, иммуноглобулины. Наркоманы, употребляющие наркотики внутривенно, в 70–90% случаев инфицированы ВГС. Медицинские работники, имеющие контакт с кровью, например сотрудники отделений гемодиализа станций переливания крови, клинических лабораторий, хирурги, стоматологи и т.д., также входят в группу риска.

Уровень инфицированности ВГС среди медицинских работников в среднем в 3–5 раз выше, чем среди обычного населения.

При трансплантации органов нередко (~25%) возникает ГС. Относительно меньшее значение имеют половой, бытовой и вертикальный пути передачи, что связано с низкой вирусемией ВГС. Встречаются внутрибольничные и внутрисемейные вспышки ГС. Это связано, как правило, с нарушением санитарно-эпидемического режима.

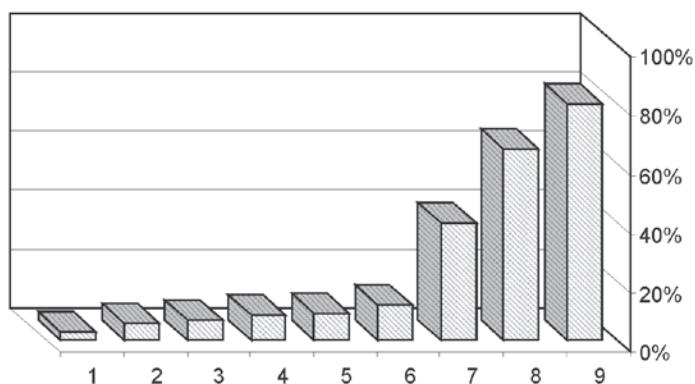


Рис.6. Частота ВГС у лиц, относящихся к группам риска

- 1 – 0,5-6,0% – доноры
- 2 – 5-7% – пациенты, получившие гемотрансфузию
- 3 – 4-10% – гетеросексуальные партнеры
- 4 – 7-10% – лица, подвергшиеся парентеральным вмешательствам (посещение стоматолога, хирурга, зондовое обследование и т.д.)
- 5 – 3-15% – медицинский персонал
- 6 – 4-15% – гомосексуальные партнеры, проститутки
- 7 – 25-55% – больные отделения гемодиализа
- 8 – 60-70% – больные гемофилией
- 9 – 70-90% – наркоманы, вводящие наркотики внутривенно

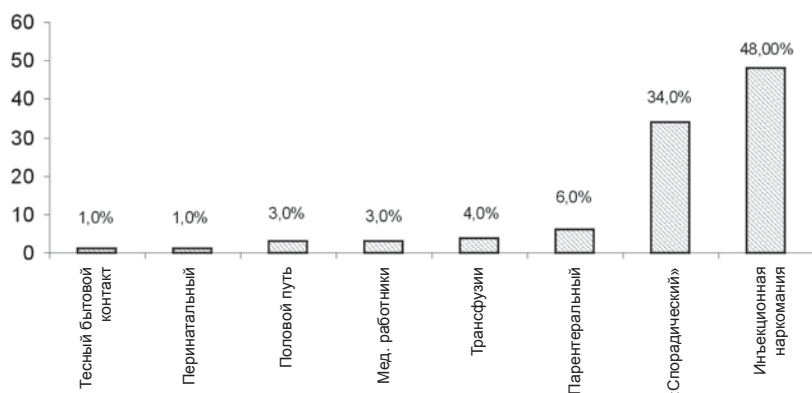


Рис.7. Факторы риска развития острого гепатита С

Почти у 40% больных хроническим гепатитом С не удается точно установить путь инфицирования. В таких случаях используют термин «спорадический гепатит» (рис. 7). Правда, не уточнено, как часто у этих больных «спорадическим» гепатитом С задействован чрезкожный путь передачи: нанесение татуировки; однократное или очень непродолжительное внутривенное введение наркотиков; использование общих зубных щеток; бритвенных или маникюрных приборов и т.д. Многообразие подобных факторов (к ним можно добавить иглоукалывание, многократное использование инъекционных канюль, например, при очередных вакцинациях и др.) дает основание предположить, что в качестве путей инфицирования могут выступать такие моменты, на которых не акцентируется внимание больных при расспросе, и которые, естественно, сами больные также упускают из виду.

Диагностика

Клинико-эпидемиологическое обследование, определение уровня печеночных ферментов и иммуноферментная диагностика, дополненные в случае необходимости данными инструментальных методов обследования, определением РНК и биопсией печени, позволяют установить диагноз и стадию заболевания ГС.

При диагностике ГС принципиально важен сбор эпиданамнеза для установления возможного момента инфицирования. Од-

нако получение необходимой информации часто затрудняется, поскольку заражение могло произойти и 20–30 лет назад. Основные группы повышенного риска заражения – это больные, получавшие повторные переливания крови и ее продуктов, в том числе задолго до введения обязательного тестирования доноров на анти-ВГС, и наркоманы с внутривенным введением наркотиков. В этих двух направлениях и следует прежде всего уточнять анамнестические данные. Правда, приходится учитывать огромное число больных со «спорадическим» (см. выше) ГС, в анамнезе которых вообще нет указаний на какие-либо парентеральные вмешательства. Высокоинформативны указания о повторных, не резко выраженных обострениях, позволяющие допустить развитие длительного вялотекущего заболевания.

Лабораторная диагностика гепатита С основана на обнаружении в образцах сывороток или плазмы крови человека специфических маркеров вируса гепатита С: антител к антигенам ВГС, относящихся к иммуноглобулинам классов G и M (анти-ВГС-IgG и анти-ВГС-IgM), а также нуклеиновой кислоты возбудителя (РНК ВГС).

Для выявления вышеперечисленных маркеров используют следующие диагностикумы:

1. Скрининговые тест-системы 1, 2, 3 и 4 поколения (анти-ВГС-IgG).
2. Подтверждающие тесты:
 - иммуноблот («INNO-LIA HCV Ab III», «Riba», «DECISCAN HCV plus» и др.);
 - ИФА («ABBOTT HCV EIA SUPPLEMENT ASSAY», «РекомбиБест анти-ВГС – подтверждающий тест», «Анти-ВГС-спектр»).
3. Диагностикумы, выявляющие активную репликацию вируса:
 - ИФА (анти-ВГС-IgM, core-Ag);
 - ПЦР (РНК-ВГС).
4. Экспресс-тесты («HCV спот экспресс», «ВГС-экспресс» и др.).

В скрининговых исследованиях по диагностике ГС используют твердофазный ИФА для определения анти-ВГС иммуноглобулинов класса G. В 1989 г. была создана первая иммуноферментная тест-система (ИФТС) для выявления антител к одному неструктурному белку ВГС. Эта ИФТС была не достаточно чувствительна, особенно при ранней диагностике гепатита С, что привело к разработке ИФТС второго, третьего и четвертого поколений.

ИФТС 3 и 4 поколения дают высокую степень выявления антител к ВГС. Однако в некоторых случаях антитела к вирусу могут

Таблица 1

**Сравнение разных поколений диагностических
иммуоферментных тест-систем для выявления антител к ВГС**

Тест-система	Шифр фрагментов	Белок, содержащий данный фрагмент
1 поколение	с 100-3, 5-1-1	NS ₄
2 поколение*	с 100-3, с 33-3, с 33 с	NS ₄ , кор, NS ₃
3 поколение*	с 100-3, с 33-3, с 33 с, NS ₅	NS ₄ , кор, NS ₃ , NS ₅
4 поколение**	с 100-3, с 33-3, с 33 с, NS ₅	NS ₄ , кор, NS ₃ , NS ₅

* в тест-системах используется либо рекомбинантные вирусные антигены, либо синтетические пептиды

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

не обнаруживаться, например, при запаздывании иммунного ответа и при применении иммуносупрессивной терапии. Возможны также ложноположительные реакции (до 10%).

Для лучшего понимания характера серологических ответов используют оценку результатов ИФА в условных единицах, называемых коэффициентами позитивности и вычисляемых по формуле:

$$\text{КП(у.е.)}^{***} = \frac{\text{ОП}_{\text{образца}}}{\text{ОП}_{\text{крит}}}$$

При КП>1 результат расценивают как положительный, при КП<1 – как отрицательный. Сравнение КП в динамике помогает определить стадию заболевания и правильно выбрать терапию. Лабораторный ответ: «положительный» или «отрицательный» – малоинформативен для врача-инфекциониста, даже при наблюдении в динамике. В таблице 2 приводятся примеры наблюдения за КП в динамике.

В данном примере использовались только скрининговые диагностикумы для определения анти-ВГС-IgG. Если бы аналогичные исследования были проведены по определению анти-ВГС-IgM и спектра антител к отдельным белкам вируса, можно было бы еще более точно определить стадию заболевания.

*** — рассчитывая и используя КП, нужно пользоваться тест-системами одного производителя. Образцы сывороток от одного пациента можно собирать в динамике и затем тестировать в одной постановке.

Таблица 2

№	Анти-ВГС IgG в (КП)				Заключение
	1-й забор крови	ч/з 3 мес	ч/з 6 мес	ч/з 9 мес	
1	1,0	1,1	0,9	1,2	при отсутствии клинических признаков, нормальных биохимических показателей, РНК-отр – «ложноположительная реакция»*
2	1,0	1,5	4,0	8,0	ОГС с переходом в ХГС
3	13,9	13,8	14,1	14,0	ХГС
4	8,1	7,9	8,1	8,0	ХГС

* Должны быть исключены врачом-инфекционистом: иммунодефицитное состояние (например ВИЧ-инфекция), поздняя стадия цирроза, применение иммуносупрессивной терапии, проведение плазмафереза и т.д.

Так, например, известно, что анти-*core*, анти-NS₃ выявляются на самых ранних этапах сероконверсии. В то время как анти-NS₄ и анти-NS₅, как правило, появляются позднее. Показано, что при ОГС исход инфекции в значительной мере могут отражать изменения в КП (или титрах) противовирусных антител, наблюдаемых в течение 6–12 месяцев. Резкое снижение анти-ВГС иммуноглобулинов класса G к *core*- и NS₃-белкам ВГС – хороший прогноз, вероятность самоэлиминации вируса. При постоянных величинах этих маркеров в эти же периоды – большая вероятность хронизации процесса. Длительная циркуляция антител класса IgM к ВГС и раннее появление анти-NS₅ также считаются признаками перехода заболевания в хроническую стадию. Следует отметить, что существуют некоторые противоречия в вопросах, связанных с корреляцией спектра антител и определением стадии или прогноза заболевания в исследованиях разных авторов. По-видимому, требуются дополнительные исследования по этим вопросам.

В соответствии с алгоритмом исследования, при получении положительного результата в первичном скрининговом исследовании, необходимо повторить анализ в дубликate для исключения технической ошибки. При повторном положительном результате необходимо подтверждение в одном из подтверждающих тестов (Приказ № 322 Минздрава России). Подтверждающие тесты необходимы для дифференциальной диагностики, оценки тяжести течения и прогноза заболевания, а также подтверждения положи-

тельных или сомнительных результатов. Для более углубленного обследования применяют тест-системы типа «Спектр» или иммуноблоты. Тест-системы типа «Спектр» предлагают многие отечественные производители. Эти диагностикумы предназначены для выявления спектра IgG-антител к вирусу гепатита С в сыворотке и плазме крови людей иммуноферментным методом. Для этого каждую сыворотку крови исследуют в 4-х лунках планшета, в каждую из которых нанесен только один рекомбинантный вирусный антиген или синтетический пептид.

Иммуноблотинги, в случае гепатита С, представляют собой нитроцеллюлозные полоски, на которые в определенной последовательности нанесены рекомбинантные белки и/или синтетические пептиды, соответствующие определенным антигенным детерминантам ВГС.

Использование в качестве подтверждающего теста иммуноблота позволяет снять часть ложноположительных результатов, однако требует больших финансовых затрат и имеет свои недостатки. Опыт применения этого метода показывает, что некоторые наборы для иммуноблота по чувствительности уступают иммуноферментным диагностикумам, т.е. дают ложноотрицательные результаты. Кроме того, в диагностических лабораториях, применяя иммуноблот, иногда получают также и ложноположительные результаты. В некоторых случаях это обусловлено тем, что интерпретацию результатов анализа проводят с отклонениями от заложенных в инструкции к набору рекомендаций, в соответствии с которыми результат может расцениваться как отрицательный при наличии на стрипе иммуноблота одной или даже нескольких полос.

Кроме того, при сравнении иммуноблотингов разных фирм-производителей, так же как тест-систем на основе ИФА, встречаются расхождения как в результатах исследований, так и в спектрах выявленных антител.

В целом подтверждающие тесты обладают более высокой чувствительностью и специфичностью. Однако в ряде случаев и они дают «неопределенный» результат.

При получении «неопределенного» результата в этих исследованиях (например, при выявлении антител только к одному из неструктурных белков), необходимо проводить наблюдение за анти-ВГС (в КП) и биохимическими показателями в динамике (см. табл. 2). В случае необходимости, для подтверждения или ис-

ключения диагноза ВГС подключают инструментальные методы обследования (УЗИ, биопсию), определение РНК ВГС с помощью ПЦР. Если на протяжении времени КП для обнаруженных антител не увеличивается, не появляются антитела к другим вирусным белкам, отсутствуют клинические признаки заболевания, РНК ВГС не определяется, биохимические показатели в норме, то такой неопределенный результат считают неспецифическим, т.е. «ложнопозитивным».

Для уточнения активности процесса, стадии заболевания и мониторинга лечения применяют диагностикумы, выявляющие активную репликацию вируса: ИФА анти-ВГС IgM и ВГС-ПЦР.

Корреляция между выявлением РНК ВГС и анти-ВГС-IgM составляет 85–92%.

Антигены ВГС могут быть выявлены в биоптатах печени при использовании иммуногистохимических методов исследования.

Возникает вопрос: можно ли в качестве подтверждающего теста для ИФА использовать ПЦР?

ПЦР – метод, который позволяет обнаружить инфекцию на ранних стадиях заболевания, когда еще не выявляются антитела, либо при определенной группе заболеваний (иммуносупрессивных и др.), когда антитела ниже определяемого уровня. С другой стороны, отсутствие РНК ВГС в анти-ВГС положительных образцах крови не может быть использовано для разграничения про-

Таблица 3

Интерпретация результатов исследования образцов сывороток на анти-ВГС IgG и РНК-ВГС

Анти-ВГС IgG	РНК ВГС	Заключение
–	–	Нет ВГС
–	+	1. ОГС (серонегативное окно) 2. ХГС при иммуносупрессии (АТ ниже определяемого уровня) 3. Л/п результат ПЦР
+	+	1. ОГС 2. Обострение ХГС
+	–	1. ХГС – латентная фаза (в стадии ремиссии) 2. Выздоровление (пастинфекция) 3. Л/п результат ИФА

педшего ГС (пастинфекции), хронического ГС (латентная фаза) и «ложноположительного» (л/п) результата ИФА (см. табл. 3). Обнаружение РНК ВГС в сыворотке крови с анти-ВГС только указывает на текущую инфекцию и не позволяет отличить острый гепатит С (ОГС) от обострения хронического (ХГС) заболевания.

В ряде исследований показано, что при детекции РНК вируса с помощью метода полимеразной цепной реакции у больных ХГС она обнаруживалась одновременно в сыворотке крови и биоптатах печени в 40% случаев, только в крови – в 30%, только в тканях – в 20% случаев. При повышенных уровнях АлАТ у больных РНК ВГС часто определяли только в тканях печени.

Ограничения ПЦР метода

ПЦР – современный, высокочувствительный метод. Однако его достоинство – высокая чувствительность, является одновременно и его уязвимостью, т.е. приводит к ложным результатам даже при выполнении анализа высококвалифицированными специалистами в хорошо оснащенных лабораториях. Результаты исследований в разных лабораториях часто не совпадают, что указывает на необходимость стандартизации диагностических систем для ПЦР диагностики и повышенного внимания к проведению данного вида исследований. Высокая стоимость, длительность анализа, сложность метода и несовпадение результатов, полученных в разных лабораториях, ограничивают использование ПЦР в широкой практике.

«ВГС-экспресс» (ЗАО «Вектор-Бест») – тест-системы предназначены для быстрого (в течение 10 минут) выявления антител к ВГС в крови, сыворотке или плазме.

Принцип работы тест-системы основан на варианте иммунного твердофазного дот-анализа с использованием антигенов ВГС, соответствующих участкам белков, кодируемых структурной (*core*) и неструктурной (NS_3 , NS_4 , NS_5) областью генома ВГС. Тест-система проста в применении, не требует специального оборудования; возможно проведение единичного анализа.

Показана высокая степень совпадения результатов анализа с ИФА (97–98%), что позволяет использовать тест-систему «ВГС-экспресс» как средство диагностики ВГС-инфекции в регионах с ограниченными лабораторными возможностями, при отсутствии условий для работы с ИФА тест-системами, а также при необходи-

мости экстренной проверки крови пациентов на отсутствие маркеров ВГС-инфекции.

Новые диагностические тест-системы

Ortho Clinic Diagnostic (США) начала выпуск иммуноферментного набора для определения *core*-антигена ВГС. Данный тест удобен как при выявлении ранней стадии ВГС-инфекции, когда еще не появились вирус-специфические антитела (показано, что *core*-Ag определяется через 2–3 дня после обнаружения РНК ВГС), так и как дополнительный тест при диагностике ХГС. Перспективен для прогноза и мониторинга терапии.

Биопсия печени

Биопсия печени (БП) позволяет получить информацию о степени фиброза и гистологических данных, недоступную при других методах исследования. БП является «золотым стандартом» в диагностике гепатита С. Гистологические исследования играют существенную роль в уточнении диагноза и оценке активности и стадии заболевания. БП позволяет оценить эффективность проводимой терапии. Показано, что даже при постоянной вирусной нагрузке в процессе лечения часто наблюдается значительное улучшение гистологической картины.

Клиника

Клинически гепатит С протекает значительно легче, чем гепатит В. Случаи фульминантного гепатита, этиологически связанные с вирусом гепатита С, встречаются редко. Считается, что они возникают чаще при суперинфицировании носителей вируса гепатита В и больных циррозом печени иной этиологии. Фульминантный гепатит С зарегистрирован у пациентов при пересадке печени, получавших массивную иммуносупрессивную терапию.

Однако, по данным Европейского комитета по профилактике вирусных гепатитов, гепатит С, как причина смертности среди больных с хроническим поражением печени, занимает второе место, уступая только хроническому алкоголизму. Например, в США начиная с 1995 года количество смертей, связанных с ВГС, оценивается в 9–10 тысяч ежегодно.

Отличительной особенностью ГС является малосимптомное течение, длительное время остающееся нераспознанным, так как

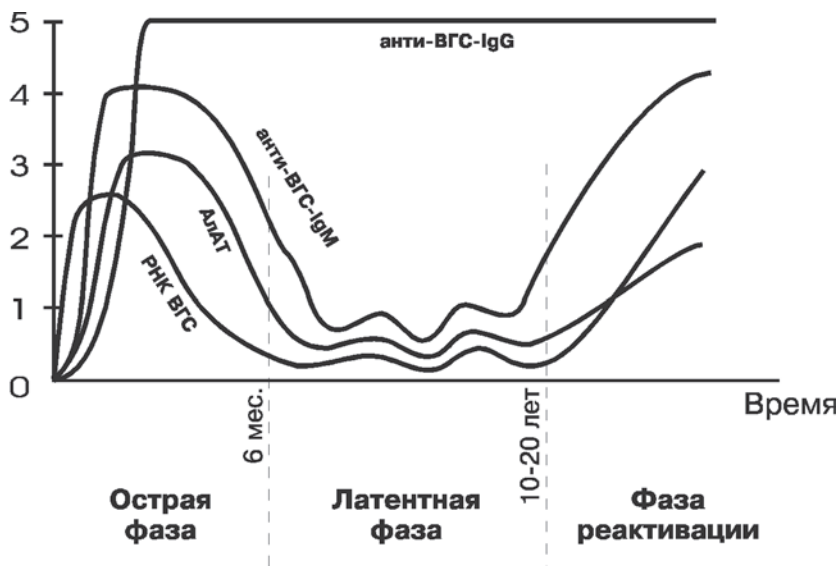


Рис. 8. Фазы течения заболевания (ГС)

протекает под маской других болезней органов пищеварения: гастритов, язв, холециститов и прочих, но постепенно прогрессирующее с развитием цирроза и гепатоцеллюлярной карциномы (ГЦК). Риск развития ГЦК в три раза выше, чем при инфекции ВГВ. В многолетнем течении заболевания разграничивают три фазы: острую, латентную и фазу реактивации (рис. 8).

Острая фаза

Острый гепатит С клинически неотличим от других вирусных гепатитов. Продромальный период характеризуется неспецифическими симптомами со стороны желудочно-кишечного тракта: тошнотой, рвотой, болями в животе. Затем может появиться желтуха. Считается, что на один случай заболевания, протекающего с желтухой, приходится два случая безжелтушного гепатита. При безжелтушном течении ГС в большинстве случаев остается нераспознанным. Некоторые пациенты жалуются на боли в суставах. Очень характерным симптомом является мучительный кожный зуд на ногах и туловище без каких-либо высыпаний на коже.

Инкубационный период длится в среднем 6–8 недель с возможными колебаниями от 2–4-х недель до 4–6 месяцев и больше. В этот момент регистрируется первый пик повышения уровня печеночных ферментов. Уровень ферментов в крови обычно ниже, чем при ГВ (превышает норму в 5–30 раз). Сероконверсия наступает через 15–20 недель (варьируется от 5 до 50 недель) от момента заражения. На 3–4 недели раньше анти-ВГС-IgG обнаруживаются анти-ВГС-IgM. РНК вируса с помощью ПЦР определяется через 1–3 недели после инфицирования.

Критерии острой фазы:

- наличие «точки отсчета» по данным эпиданализа;
- синдром острого гепатита при отсутствии указаний на подобные заболевания в прошлом;
- повышение уровня печеночных ферментов;
- обнаружение анти-ВГС-IgM и нарастание их титров при динамическом наблюдении;
- выявление анти-ВГС-*core*-IgG и/или анти-ВГС-NS₃-IgG с нарастанием титров в динамике;
- определение РНК ВГС.

Иммунная система может, хотя и редко, уничтожить вирус. Известно, что около 15% больных острым гепатитом С выздоравливают. К сожалению, нет четких представлений об особенностях иммунного ответа выздоравливающих людей. Но строго доказано, что ослабление иммунной системы сопутствующими заболеваниями или нездоровым образом жизни способствует развитию хронического гепатита С.

Критерии благоприятного исхода острого ГС (пастинфекция):

- указание на острую стадию в анамнезе;
- отсутствие клинических проявлений;
- анти-ВГС-IgM исчезают в ранние сроки;
- регистрируется стойкое отсутствие РНК ВГС;
- анти-ВГС-IgG продолжают циркулировать в крови годы.

Желтуха является хорошим прогностическим признаком, а длительная циркуляция анти-ВГС-IgM (более 2-х мес.) – плохим, свидетельствующим о возможной хронизации процесса.

Легкое течение острого гепатита С и редкость фульминантных форм заболевания указывают на то, что главная проблема инфекции ВГС связана с ее хронизацией.

Латентная фаза

Соответствует хроническому персистирующему течению ВГС-инфекции при полном или почти полном отсутствии клинических проявлений. Может продолжаться многие годы, в среднем 15–20 лет. Тем не менее, в ряде исследований показано, что в этот период при гистологических исследованиях в 50% случаев выявляются признаки ХГС. В латентную фазу большинство инфицированных лиц считают себя здоровыми, оставаясь потенциальными источниками инфекции.

Критерии латентной фазы:

- наличие в анамнезе указаний на острую стадию;
- отсутствие клинических проявлений;
- анти-ВГС-IgG как к core, так и к неструктурным белкам (NS3, NS4, NS5) в высоких титрах;
- анти-ВГС-IgM и РНК ВГС не обнаруживаются либо, учитывая характерную черту ГС – «волнообразность», выявляются в низких концентрациях во время обострения инфекции;
- во время обострения могут незначительно повышаться и уровни печеночных ферментов.

Фаза реактивации

Соответствует началу клинически манифестной хронической стадии ГС с последующим развитием цирроза печени (в 25–50% случаев) и гепатокарциномы.

Длительное наблюдение за больными с ГС показало, что хронический гепатит обнаруживается при биопсии, в среднем, через 10–15 лет после трансфузии (от 1 до 45 лет), а цирроз – через 20–25 лет (от 10 до 50 лет). Однако у отдельных больных с особо агрессивным течением заболевания цирроз может сформироваться менее чем за 2 года. Исследования, проведенные по определению анти-ВГС и РНК ВГС у больных с гепатоцеллюлярной карциномой, продемонстрировали важную роль ВГС в развитии этого заболевания. У больных с гепатоцеллюлярной карциномой в 50–75% случаев обнаруживали маркеры ВГС.

Сочетанное заражение вирусами гепатитов С и В увеличивает вероятность развития гепатоцеллюлярной карциномы.

Клиническая картина в фазу реактивации характеризуется признаками астении. Больные жалуются на быструю утомляемость, слабость, недомогание, прогрессирующее снижение

Таблица 4

Специфические маркеры в разные стадии ГС

	Острый ГС			Латентная фаза ХГС				Фаза реактивации ХГС	Пастинфекция
	+	-	+	-	-	+	+		
анти-ВГС gM	+	-	+	-	-	+	+	+	-
анти-ВГС IgG	-	-	-	+	+	+	+	+	+
РНК ВГС	+	+	-	-	+	-	+	+	-

трудоспособности, нарушение сна, наблюдается ухудшение аппетита и потеря веса. Объективным признаком является увеличение и уплотнение печени, нередко в сочетании с увеличением селезенки.

Критерии перехода в фазу реактивации:

- наличие в отдаленном анамнезе указаний на острую фазу;
- появление клинических признаков хронического гепатита;
- повышение уровня печеночных ферментов;
- закономерное обнаружение в высоких титрах анти-ВГС-IgG к core и NS;
- обнаружение анти-ВГС-IgM, преимущественно в высоких титрах;
- определение РНК ВГС.

В таблице 4 приводятся серологические маркеры, соответствующие разным стадиям ГС.

Критерии разграничения фаз заболевания необходимо рассматривать только в совокупности и в динамике, так как близкие результаты разовых исследований могут соответствовать как острой, так и хронической стадии инфекционного процесса. Важное значение имеет учет предположительной давности болезни.

Внепеченочные проявления заболевания

Вскоре после открытия ВГС стало ясно, что этот вирус не только вызывает поражение печени, но и дает многочисленные внепеченочные проявления, связанные, возможно, с индукцией иммунных комплексов или развитием аутоиммунных процессов.

Доказана внепеченочная репликация вируса ГС: в мононуклеарах, в В-лимфоцитах, в клетках костного мозга. Учитывая широкий круг заболеваний, вызываемых вирусом, предложено переименовать гепатит С в инфекцию ВГС. Внепеченочные проявле-

ния ГС возникают преимущественно у больных с склонностью к аутоиммунным реакциям.

Какие же внепеченочные проявления доминируют в клинической картине инфекции ВГС?

Однозначно, с ВГС можно связать следующие внепеченочные проявления:

- мембранопролиферативный гломерулонефрит;
- эссенциальную кариоглобулинонемию, синдром нейропатии, изменения кожи, артрит, гломерулонефрит и аутоиммунный тиреоидит.

Предположительной считается связь ВГС-инфекции с идиопатической тромбоцитопенией, красным плоским лишаем, язвами роговицы Мооген, синдромом Шегрена (лимфоцитарным иалоаденитом) и В-клеточной лимфомой. В отношении других внепеченочных проявлений нет доказательств их тесной взаимосвязи с ВГС-инфекцией, однако необходимы дальнейшие исследования, которые позволят, по-видимому, дополнить представленный перечень.

Учитывая генерализованный характер инфекций, вызываемых вирусами гепатитов, с вовлечением в патологический процесс многих органов и тканей, целесообразна проверка сыворотки крови на наличие маркеров ВГС и ВГВ всех лиц, обращающихся за медицинской помощью.

Факторы, повышающие риск инфицирования и отягощающие течение ГС

Риск инфицирования существенно повышается при высокой концентрации вируса в крови и при сопутствующей ВИЧ-инфекции. Особенности течения ГС определяются дополнительными факторами, повреждающими печень: наличием двойной, тройной вирусной инфекции (ВГВ, ВГД, вирусы герпес-группы, ВИЧ), злоупотреблением алкоголем, курением, употреблением наркотиков, приемом ряда лекарств, вызывающих повреждение печени. Важное значение имеет иммунный статус, содержание железа в ткани печени. Показано, что повышение содержания железа в печени сопровождается снижением ответа на интерферонотерапию.

Трансплантация органов и передача ВГС

Вирусы нередко вызывают поражения печени после трансплантации органов. Вне зависимости от вида трансплантации ВГС обнаруживается у реципиентов особенно часто, если используются органы ВГС-РНК-положительных доноров. Инфекция ВГС принимает у таких реципиентов хроническое течение. Хорошо изучен риск передачи ВГС при трансплантации почек. Несмотря на то, что у таких больных отмечалась активная репликация ВГС, ни один из пациентов за время наблюдения не умер от последствий гепатита. У них отсутствовали признаки быстро прогрессирующего цирроза печени и фульминантного гепатита.

Инфекция ВГС и беременность

Перинатальный (или вертикальный) путь передачи ВГС от инфицированной матери ребенку представляет собой чрезвычайно важную проблему практической медицины (особенно с учетом аналогичной проблемы у больных с инфекцией ВГВ). Известно, что HBsAg-положительная и (что еще более важно) HBeAg-положительная мать почти всегда передает вирус своему ребенку. К счастью, при инфекции ВГС ситуация складывается по-другому.

Большинство детей, рожденных от матерей, инфицированных ВГС, имеют материнские антитела к ВГС, которые исчезают через 10–15 месяцев. При обследовании новорожденных на РНК ВГС удалось доказать, что вероятность передачи вируса от матери к ребенку все же имеет место (до 5%).

Факторами риска являются: высокая вирусная нагрузка у матери, сопутствующая ВИЧ-инфекция, иммуносупрессия и родовые травмы.

Многие молодые женщины обеспокоены не только вопросом о том, могут ли они во время беременности инфицировать своего ребенка ВГС, но и тем, не скажется ли отрицательно беременность на течении у них хронической ВГС-инфекции. Данных, которые позволили бы ответить на эти вопросы, не очень много. Однако точки зрения различных авторов совпадают в том, что у молодых беременных, страдающих хроническим гепатитом С без перехода в далеко зашедшие стадии цирроза печени, течение беременности, по всей вероятности, будет достаточно спокойным. Примечательно, что у многих таких женщин на фоне беременности происходит даже нормализация активности трансаминаз, которая, однако, возвращается к исходным значениям после родоразрешения.

Таким образом, ни течение заболевания у женщин, ни состояние новорожденного не дают нам достаточных оснований убеждать молодых женщин, инфицированных ВГС, отказываться от беременности.

Возникает следующий вопрос: может ли мать, инфицированная ВГС, кормить грудью? Известно, что кормление грудью имеет большое значение для детей грудного возраста, родившихся преждевременно и с недостаточной массой тела, особенно в плане их защиты от инфекций.

По результатам многих исследований можно заключить, что передача ВГС от матери к ребенку при отсутствии факторов риска (иммуносупрессия, ВИЧ-инфекция) представляет собой большую редкость. Все сказанное не дает основания рекомендовать анти-ВГС-положительным матерям воздерживаться от кормления своих детей грудью.

Лечение

Лечение гепатита С является одной из наиболее сложных проблем современной клинической медицины и, кроме того, затрагивает немаловажные социальные аспекты, поскольку является длительным и дорогостоящим. Ежегодно в рамках государственных программ всех развитых государств расходуются огромные средства, направленные на поиски путей повышения эффективности и разработку новых схем терапии. Основным и практически единственным действительно эффективным препаратом для терапии гепатита С (как острого, так и хронического) в настоящее время является рекомбинантный альфа-интерферон.

Однако, применение его связано с большим количеством проблем:

- инъекционная форма введения, что при длительных курсах лечения создает серьезный дискомфорт для пациента;
- высокая стоимость препарата;
- большой процент рецидивов заболевания после отмены терапии;
- резистентность к препарату;
- выраженные побочные эффекты, в ряде случаев вызывающие необходимость его отмены.

Наиболее часто среди побочных эффектов встречаются пирогенные реакции, миалгии, отмечены случаи развития депрес-

сивных состояний. Частично эти проблемы разрешили препараты пролонгированного действия – интерфероны, модифицированные полиэтиленгликолем (ПЭГ).

Комбинированное действие дает больший эффект, чем монотерапия. Наибольшая эффективность зарегистрирована при применении ПЭГ-интерферона в комбинации с рибавирином.

В случае выявления острого гепатита С лечение рекомендовано начинать сразу после установления диагноза. Согласно обобщенным литературным данным, при назначении интерферона в острую фазу выздоровление наступает, в среднем, у 60% больных, что во много раз превосходит частоту благоприятных исходов при естественном течении ОГС.

Эффективность лечения при хроническом ГС – 10–20% при генотипе 1b и до 40% при других генотипах ВГС. Под эффективностью терапии в случае ХГС понимают сохранение благоприятных сдвигов (прежде всего, исчезновение РНК ВГС и анти-ВГС-IgM, нормальный уровень АЛТ и АСТ) в течение 6 месяцев после окончания курса. Чем раньше (на более ранней стадии) начато лечение, тем больше вероятность успеха.

При ХГС выделяют следующие основные показания к противовирусному лечению:

- активный гепатит без признаков цирроза;
- наличие РНК ВГС в крови;
- постоянно повышенный уровень АЛТ.

В случае наличия вышеперечисленных показаний к ИФН-терапии первостепенной задачей клинициста является оценка возможной эффективности для конкретного пациента. Основанием для назначения терапии может служить наличие следующих факторов, указывающих с большой долей вероятности на конечный благоприятный лечебный эффект:

- небольшая продолжительность заболевания (< 5 лет);
- отсутствие гистологических признаков цирроза печени;
- молодой возраст больных (< 45 лет);
- низкий титр ВГС в сыворотке;
- генотип ВГС, отличный от генотипа 1b;
- низкое содержание железа в ткани печени.

Обязательно следует учитывать возможные противопоказания к лечению интерфероном. К противопоказаниям относятся наличие цирроза печени, тромбоцитопения, лейкопения, тяжелые

проявления депрессии, сопутствующие аутоиммунные заболевания, наркомания, а также злокачественные опухоли.

При лечении декомпенсированного цирроза печени методом выбора (по мнению гепатологов) должна быть не интерферонотерапия, а трансплантация печени.

Больным, у которых выявляются анти-ВГС и РНК ВГС в сыворотке, но постоянно определяется нормальный уровень трансаминаз, интерферонотерапия также не показана, поскольку имеющиеся сейчас данные не свидетельствуют о пользе применения ИФН у таких пациентов. Ранее считалось, что если через 3 месяца после начала лечения нет значительного снижения уровня РНК, то надо либо менять схему лечения, либо его отменять. Однако, в настоящее время стало известно, что даже при устойчивом уровне виремии часто обнаруживается значительное улучшение гистологической картины.

Как правило, у таких больных выявляется минимальная степень фиброза. Не было обнаружено взаимосвязи между генотипом возбудителя, уровнем виремии и патоморфологическими изменениями в печени.

При определении показаний к лечению интерфероном у пациента с гепатитом С и сопутствующими заболеваниями очень важно оценить, какая патология является ведущей. Решающим фактором может служить темп прогрессирования сопутствующего заболевания. При наличии сопутствующего заболевания с быстрой прогрессией от терапии интерфероном гепатита С в большинстве случаев следует воздержаться из-за риска осложнений, которые могут увеличить темп прогрессирования сопутствующего заболевания.

При отсутствии показаний к ИФН-терапии необходимо проведение динамического наблюдения и базисного, в основном симптоматического, лечения (особенно при сопутствующих заболеваниях). Контрольные исследования биохимических показателей крови целесообразно назначать 1 раз в 3 месяца; РНК ВГС, белковый спектр крови, протромбин и альбумин – 1 раз в 6 месяцев; УЗИ и α -фетопротеин – 1 раз в 12 месяцев. В случаях проведения только базисной терапии при динамическом обследовании рекомендуется провести повторную биопсию печени через 4–5 лет.

В настоящее время отчетливо проявляется стремление больных лечиться «природными средствами»: травами и пищевыми добавками. Многие из фармацевтических препаратов содержат в

своей основе травы, используемые народными целителями. Однако надо помнить, что травы и пищевые добавки должны использоваться с той же осторожностью, что и другие лекарственные препараты, так как могут сами оказывать выраженное гепатотоксическое действие.

Образ жизни

Что делать, как жить, если у Вас обнаружили гепатит С? Да, это опасное инфекционное заболевание. Однако правда заключается в том, что подавляющее большинство умрет с ВГС, а не от ВГС. У некоторых людей диагноз ВГС-инфекции способствует изменению привычек, и они начинают вести здоровый образ жизни. Существует китайская поговорка, что человек с заболеванием переживет человека без заболевания. Придется внести некоторые изменения и ограничения в Вашу жизнь. Во-первых, необходимо периодически обследоваться у врача-гепатолога и выполнять его рекомендации. Во-вторых, отказаться от приема алкоголя и других гепатотоксических веществ, соблюдать диету. В-третьих, соблюдать меры безопасности, чтобы не заразить окружающих Вас людей. (Перевязывайте свои раны, не оставляйте кровь на бытовых предметах; используйте только свои бритвенные принадлежности, зубные щетки, щипчики для ногтей и т.д.; практикуйте «защищенный» секс).

Часто возникает вопрос: для чего проводить курсы терапии при ХГС, если шансы на успех невелики? Ответ: если есть к тому показания, то терапию необходимо проводить, так как она способствует улучшению качества жизни и в ряде случаев увеличению продолжительности жизни. Известно, что лечение может привести к улучшению функции печени, даже при наличии вируса. И наконец, если известие о Вашем заболевании приводит Вас к депрессии и Вы чувствуете, что не можете сами справиться с этой проблемой, обратитесь к психотерапевту. Помните: наша жизнь зависит не столько от событий, которые в ней происходят, сколько от того, как мы к этим событиям относимся.

Профилактика

Отсутствие эффективного лечения ГС, проблематичность создания вакцины, связанная с не имеющей равных генетической гетерогенностью ВГС, определяют острую важность профилак-

ческих мероприятий. Существуют специфические и неспецифические методы профилактики. К неспецифическим относятся: внедрение одноразовых шприцов и прочих инструментов, качественная стерилизация медицинского инструментария многократного пользования, уменьшение числа переливаний крови, повышение общего профессионального уровня медицинских работников, усиление противоэпидемического режима в медицинских учреждениях, повышение общего культурного уровня населения.

Чрезвычайно важным разделом профилактики гепатита С является уменьшение частоты передачи ВГС при приеме наркотических препаратов. Социально-адаптированные информационные и другие программы профилактики наркомании и ВИЧ-инфекции также направлены на снижение заболеваемости гепатитом С. Важным разделом профилактики полового пути передачи гепатита С является пропаганда гигиенических знаний и безопасного секса. Использование презервативов является надежным способом защиты от гепатита С.

Специфическую профилактику гепатита С, т.е. своевременную и качественную диагностику, проводят прежде всего в службах переливания крови, выявляя возможных вирусоносителей с наличием анти-ВГС (Приказ Минздрава № 293 от 20.12.93 г.). Благодаря установленным сейчас нормативам обследования доноров, переливание крови, внутривенный прием гемоконцентратов и других продуктов крови стали более безопасными. Для предотвращения возможной передачи вируса через контаминированные препараты крови (например VIII и IX факторы крови) проводят их обработку прогреванием при 80°C в течение 72 часов или же различными химическими веществами (р-пропиолактоном, три-(-н-бутил)-фосфатом, холатоном натрия). Обычный режим пастеризации при температуре 60°C в течение 30 часов оказался недостаточным.

Инфицированных ГС целесообразно вакцинировать против ГВ и ГА, поскольку наложение других вирусов может способствовать повышению темпов прогрессирования ГС.

Можно ли беременеть женщинам, хронически инфицированным ВГС? Да, если не возражает наблюдающий Вас врач-гепатолог. Иногда при очень высоком содержании вируса в крови возможно проникновение его через плаценту и инфицирование плода.

Тест-системы для определения специфических маркеров ВГС, выпускаемые на предприятии ЗАО «Вектор-Бест» (ИФА и ПЦР)

D-0770	«БЕСТ анти-ВГС» (комплект 3)
D-0771	«БЕСТ анти-ВГС» (комплект 1)
D-0772	«БЕСТ анти-ВГС» (комплект 2)
D-0776	«БЕСТ анти-ВГС» (комплект 4)
D-0774	«БЕСТ анти-ВГС-СПЕКТР»
D-0760	«РекомбиБест анти-ВГС – IgM»
D-0712	«ВГС-блот-Бест»
D-0797	«РеалБест РНК ВГС-генотип»
D-0798	«РеалБест РНК ВГС» (качественный вариант)
D-0799	«РеалБест РНК ВГС»

Условия обеспечения качества ИФА

В данной брошюре кратко рассматриваются правила, соблюдение которых необходимо при подготовке и постановке ИФА. Появление на потребительском рынке высокочувствительных тест-систем диктует жесткие требования к выполнению ИФА. Несоблюдение этих требований ведет к искаженному результату анализа.

Основные положения

- Метрологический и текущий контроль оборудования.
- Соблюдение правил при подготовке исследуемых образцов.
- Выбор, доставка и хранение тест-систем.
- Подготовка посуды к работе.
- Соблюдение правил при подготовке и постановке ИФА.
- Правильный учет результатов.
- Внешний и внутрилабораторный контроль качества.

Требования следующие:

- Для приготовления растворов и проведения ИФА следует использовать чистую мерную посуду и автоматические пипетки с погрешностью измерения объемов не более 5%.

- Сыворотки, содержащие осадок, могут дать неправильный результат. Такие образцы перед использованием следует центрифугировать 10–15 мин при 3 000 об./мин.
- Нельзя использовать проросшие, гиперлипидные сыворотки или подвергавшиеся многократному замораживанию и оттаиванию.
- Для скорейшего формирования фибринового сгустка рекомендуется термостатирование 30 мин при 37°C.
- Для обведения крови на каждую пробирку использовать свою стеклянную палочку.
- Перед постановкой реакции все компоненты тест-системы необходимо выдержать не менее 30 мин при комнатной температуре (18–25)°C.
- Отобрать необходимое количество стрипов. Оставшиеся – сразу упаковать в пакет с осушителем. После постановки реакции плотно закрытые флаконы с исходными компонентами, упакованные стрипы поместить в холодильник (2–10)°C, использовать в течение времени, оговоренного инструкцией по применению набора.
- Растворы хромогена (ОФД, ТМБ) и конъюгата в рабочем разведении готовить непосредственно перед использованием. Исключить воздействие света на раствор хромогена.
- При промывке стрипа лунки заполнять полностью (300 мкл промывочного раствора) и не касаться лунок наконечниками пипетки. Время между заполнением и опорожнением лунок должно быть не менее 10 сек.
- При использовании автоматического вошера или гребенки необходимо следить за состоянием емкости для промывочного раствора и соединительных шлангов: в них не должно быть заростов. В конце каждого рабочего дня промывочную систему необходимо тщательно промывать водой. Раз в неделю желательна емкость для промывочного раствора и шланги промывать 70% спиртом.
- Не допускать высыхания лунок стрипов между отдельными операциями.
- Необходимо точно соблюдать временные и температурные режимы ИФА.
- При постановке ИФА нельзя использовать компоненты из наборов разных серий или смешивать их при приготовлении растворов.
- Запрещается многократное использование планшета для предварительного нанесения сывороток.
- Перекисью водорода (другие дезинфицирующие растворы не

использовать) обрабатывать только наконечники для пипеток, используемые для работы с исследуемыми сыворотками и контрольными образцами. В случае их повторного использования, обеззараживать в 6% перекиси водорода (не менее 6 ч) с последующей 10-кратной промывкой в проточной воде, 3-кратной промывкой в дистиллированной воде и кипячением (40 мин) в последней из 3-х порций дистиллированной воды, чтобы избавиться от следов перекиси.

- Посуду (ванночки), наконечники для пипеток, используемые для работы с остальными реагентами, не обрабатывать дезинфицирующими растворами и моющими средствами, т.к. они не содержат инфекционного агента. В случае повторного использования посуду (ванночки), наконечники для пипеток промыть проточной водой, тщательно и многократно ополоснуть дистиллированной водой.
- Посуду (ванночки), наконечники для пипеток, используемые для работы с хромогеном (ОФД, ТМБ), в случае повторного использования, сразу после работы необходимо промыть 50% раствором этилового спирта, а затем дистиллированной водой. Посуду (ванночки), наконечники для пипеток, предназначенные для работы с ОФД, не использовать для работы с ТМБ.
- Пипетки и рабочие поверхности обрабатывать только 70% раствором этилового спирта. Не использовать перекись водорода, хлорамин и т.д.

Возможные причины ложноположительных результатов из-за погрешностей постановки

- Увеличение времени инкубации.
- Плохая отмывка на стадии конъюгата.
- Длительное внесение образцов по отношению к времени инкубации.
- Контаминированный вошер, гребенка.
- Низкое качество дистиллированной воды.
- Неправильная работа с пипетками.
- Многократное использование наконечников и посуды для субстратного раствора (ТМБ).
- Нерастворенные кристаллы в концентрате отмывающего раствора.
- Заросшие или с наличием клеточных элементов сыворотки.
- Неисправный планшетный спектрофотометр.

- Высокая температура в термостате (выше 37°C) и помещении (выше 25°C).
- Загрязненное дно лунки или соринки в лунке.

Возможные причины занижения чувствительности тест-систем

- Уменьшение времени инкубации (как правило, субстратной реакции).
- Использование загрязненной посуды и наконечников.
- Замачивание посуды и наконечников в перекиси водорода или хлорсодержащих растворах без последующего кипячения в процессе мытья.
- Плохая отмывка после инкубации сывороток в тестах, выявляющих антитела.
- Растворы, не нагретые перед постановкой до комнатной температуры.
- Размещение планшет в термостате стопкой.
- Низкая температура в лабораторных комнатах.
- Нарушение правил и сроков хранения вскрытых компонентов при дробном использовании набора.
- Контаминация растворов (при дробном использовании наборов плохо промытыми наконечниками).
- Низкая температура в термостате (ниже 37°C).
- Присутствие паров перекиси в рабочей зоне (обработка столов, стен, пола, пипеток перед началом работы, наличие открытых емкостей с перекисью водорода при плохой вентиляции помещения).

В приложении приводятся таблицы, в которых наглядно показано влияние некоторых факторов на конечный результат ИФА.

Внешний и внутрилабораторный контроль качества

Существует система контроля качества лабораторной диагностики ВГС-инфекции, в которой для разных целей используются разные контрольные материалы.

Внутрилабораторный контроль

Как правило – это слабоположительный контрольный образец, предназначенный для оценки воспроизводимости результатов ИФА в лаборатории (в отличие от контрольных и стандартных панелей сывороток, предназначенных для оценки правильности результатов ИФА).

**Система контроля качества лабораторной диагностики
(ВГС –инфекции)**

1	Государственные сравнительные испытания тест-систем разных производителей	Панели сывороток, в т.ч. сероконверсионная панель (напр., фирмы ВВ1)
2	Федеральная система внешнего контроля качества (ФСВОК)	Контрольные панели
3	Текущий входной и выходной контроль	Панели сывороток ГИСК
4	Ежедневный контроль постановок ИФА	Внутрилабораторный контроль

**Приготовление внутрилабораторного контроля (ВЛК)
для исследований антител к ВГС в условиях лаборатории.**

- Отобрать анти-ВГС-положительные донорские сыворотки с ОП 0,8÷1,3 (желательно в данной постановке использовать стандартную панель ГИСК).
- Расфасовать в микропробирки по 100–500 мкл и поместить в низкотемпературную камеру – 18–20°С.
- Применять при каждой постановке ИФА.

Недостатком ВЛК собственного приготовления является нестабильность при хранении. ЗАО «Вектор-Бест» выпускает лиофилизированный ВЛК-анти ВГС, сохраняющий свою активность в течение 3-х лет.

Фасовка из 24 флаконов по 0,2 мл рассчитана на 9–12 месяцев работы лаборатории.

Приложение

Зависимость результатов ИФА от температуры инкубации с ТМБ

№ образца	ОП образца при инкубации с ТМБ		
	при температуре 8°C	при температуре 22°C	при температуре 37°C
1	0,656	0,978	1,111
2	0,412	0,647	0,709
3	0,390	0,451	0,546
4	0,260	0,400	0,499
5	0,240	0,369	0,401
6	0,191	0,240	0,375
7	0,153	0,187	0,283
8	0,148	0,169	0,203
9	0,094	0,140	0,167
10	0,067	0,112	0,114

Зависимость результатов ИФА от времени инкубации с ТМБ

№ образца	ОП образца при инкубации с ТМБ		
	30 мин по инструкции	20 мин	10 мин
1	2,45	2,13	1,82
2	2,21	2,01	1,73
3	1,61	0,44	0,29
4	1,45	0,55	0,45
5	0,99	0,41	0,36
6	0,59	0,38	0,26
7	0,40	0,16	0,13
8	0,33	0,18	0,14
9	0,19	0,17	0,12
10	0,08	0,07	0,06

ТМБ, конъюгат. Влияние перекиси водорода на результат ИФА

№ образца	ОП образца		
	Вариант сравнения	Добавлена капля H ₂ O ₂ 6%	
		Конъюгат	ТМБ
1	2,81	0,83	0,47
2	2,36	0,62	0,39
3	1,84	0,48	0,25
4	0,85	0,16	0,23
5	0,54	0,14	0,13
6	0,07	0,13	0,05
7	0,06	0,09	0,05
8	0,05	0,11	0,05
9	0,06	0,12	0,06
10	0,05	0,10	0,06

ЛИТЕРАТУРА

1. Соринсон С.Н. Вирусные гепатиты, Теза, Санкт-Петербург, 1998.
2. Балаян М.С., Михайлов М.И., Энциклопедический словарь – вирусные гепатиты, Москва, Новая слобода, 1994.
3. Jennifer A., Cuthbert, *Clinical Microbiology Reviews*, Oct, 1994, p. 505–532.
4. Гаврилова Н.И. Апробация и клиническое значение тест-системы для определения антител к вирусу гепатита С класса IgM в иммуноферментном анализе, В кн. Гепатит В, С, D и G – проблемы изучения, диагностики, лечения и профилактики, Москва, 1997, с. 44–45.
5. Лопаткина Т.Н. Клиника гепатита С. Вирусные гепатиты: достижения и перспективы, 1997, № 1, с. 12–16.
6. Soni P., Pusheiko G.M., Dhillon A.P., Harrison T.J. Genetic diversity of hepatitis C virus: Implication for pathogenesis treatment and prevention – *Lancet*, 1995, V. 345, № 8949, p. 562–566.
7. Львов Р.К., Вирусный гепатит С – «ласковый убийца», *Росс. гастроэнтерологический журнал*, 1995, № 1, с. 4–6.
8. Жаворонок С.В., Михайлов М.И., Крысенко И.А. и др. Вирусные гепатиты В и С у лиц, пострадавших от аварии на ЧАЭС, Новые направления в гепатологии: Тезисы международного Фальк Симпозиума № 92, Санкт-Петербург, 1996, с. 140.
9. Голосова Т.В., Сомова А.В. и др. Гепатиты В, С и D и их профилактика в учреждениях службы крови; В кн. Гепатит В, С и D, Москва, 1995, с. 36.
10. Афанасьев А.Ю., Пименов В.К., Зубов С.В. и др. Фазность течения гепатита С по данным динамического контроля за спектром антител к вирусу гепатита С, В кн. Гепатит В, С, D и G – проблемы изучения, диагностики, лечения и профилактики, Москва, 1997, с. 16.
11. Kurt H. Chau, George J. Dawson et al. IgM-antibody response to hepatitis C virus antigens in acute and chronic post-transfusion non-A non-B hepatitis, *J. Virological Methods*, 1991, V. 35, p. 343–352.
12. Battegay M., Immunity to hepatitis C virus, A futher piece to the puzzle – *Hepatology*, 1996, V. 24, № 4, p. 961–964.
13. Майер К.-П. Гепатит и последствия гепатита, ГЭОТАР МЕДИЦИНА, Москва, 1999.
14. Шеврон Ш., Дули Дж. Заболевания печени и желчных путей, ГЭОТАР МЕДИЦИНА, Москва, 1999.

15. Информационный бюллетень Вирусные гепатиты, достижения и перспективы № 1, 1997; № 1 (5), 1999; № 2 (9); № 2 (10), 2000.
16. «Мир вирусных гепатитов», НП «Гепатинфо», 1999-2002.
17. Хабиб О. Русский Медицинский журнал, т. 6, № 15, 1998.
18. Львов Д.К. «Вопросы вирусологии», № 6, 2002.
19. Lee S.R., Reterson J., Nioen P., Bahl C. et al. *Vox Sanguinis* (2001) 80, 19–23.
20. Жданов К.В., Гусев Д.А., Лобзил Ю.В. и др. Проблема изучения взаимосвязи между генотипом вируса, его репликацией и клинико-морфологическими проявлениями при HCV-инфекции; VIII съезд итало-российского общества по инфекционным болезням, 2002, Санкт-Петербург.
21. Гусев Д.А., Жданов К.В. и др. Сравнительная частота обнаружения генома ВГС в сыворотке крови, ткани печени и мононуклеарах крови при хроническом гепатите С; там же.
22. Калинина О.В., Мукомолов С.Л. Вирусные гепатиты, № 3 (10), 2000.
23. Beld V., Penning M., van Putten M. et al. *Hepatology*. 1999. V. 29. P. 1288–1998.
24. Bassett S.E., Brasky K.M., Landford R.E. J. *Virology*. 1998. V. 72. P. 2589–2599.
25. Quiroga J.A., Campillo M.L., Catillo I. et al. *Hepatology*. 1991. V. 14. P. 38–43.
26. Yuki N., Hayashi N., Ohkawa K. et al. *Hepatology*. 1995. V. 22. P. 402-406.
27. Chen P.J., Wang J.T., Hwang L.H. et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1992. V. 89. P. 5971–5975.
28. Clements J.M., Taskar S., Chau K. et al. *Blod*. 1992. V. 79. P. 169–172.

ОГЛАВЛЕНИЕ

Гепатит С. Этиология.....	4
Распространенность	8
Источники инфекции. Пути передачи. Факторы риска	8
Диагностика	11
Ограничения ПЦР метода.....	16
Новые диагностические тест-системы.....	17
Биопсия печени	17
Клиника.....	18
Острая фаза.....	18
Латентная фаза	20
Фаза реактивации	21
Внепеченочные проявления заболевания.....	22
Факторы, повышающие риск инфицирования и отягощающие течение ГС.....	23
Трансплантация органов и передача ВГС	23
Инфекция ВГС и беременность	23
Лечение.....	25
Образ жизни.....	28
Профилактика	29
Условия обеспечения качества ИФА.....	31
Основные положения	31
Возможные причины ложноположительных результатов из-за погрешностей постановки	33
Возможные причины занижения чувствительности тест-систем	33
Внешний и внутрिलाбораторный контроль качества.....	35

Внутрилабораторный контроль	35
Приготовление внутрилабораторного контроля (ВЛК) для исследований антител к ВГС в условиях лаборатории.	35
Система контроля качества лабораторной диагностики (ВГС-инфекции).....	35
Приложение	36
Литература	38

Информационно-методическое пособие

О.Н. Ястребова
ГЕПАТИТ С

Оригинал-макет: *А.В. Лаская*

Подписано в печать 15.02.06. Бумага офсетная. Формат 60×84/16.
Усл. печ. л. 2. Уч-изд. л. 1,85. Тираж 3000.

Отдел оперативной печати ЗАО «Вектор-Бест».
630559 Новосибирская обл., пгт. Кольцово, а/я 121.