

**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

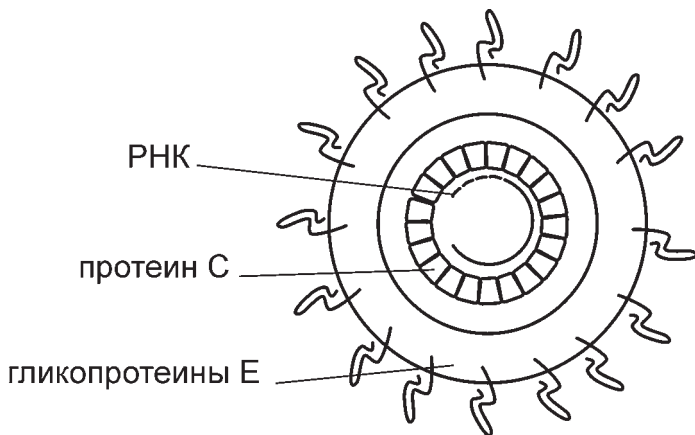


Рис.1. Схема структуры вируса гепатита С

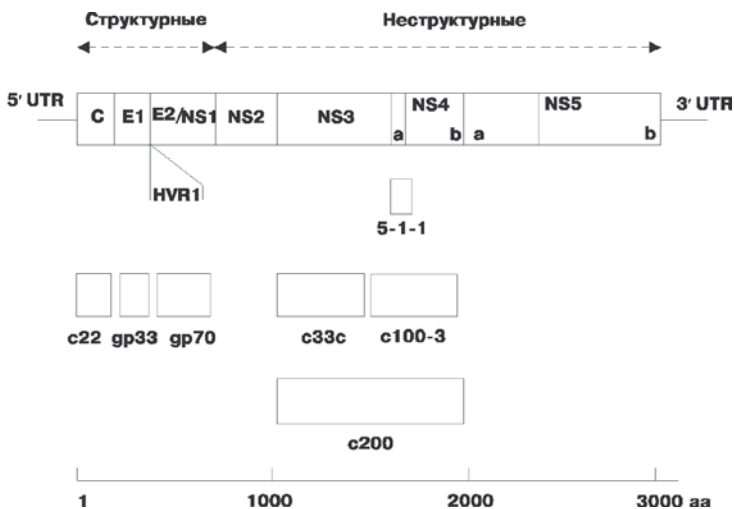


Рис. 2. Схема организации генома вируса гепатита С

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).

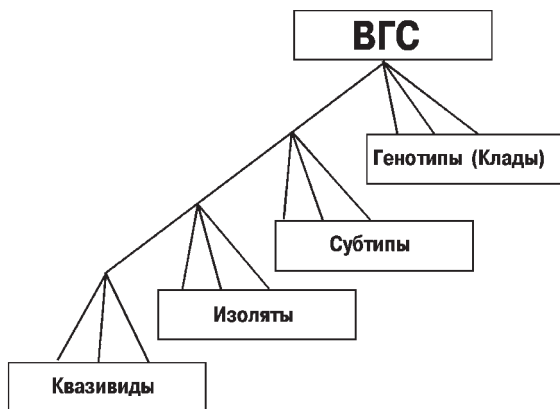


Рис.3. Уровни генетической варибельности вируса гепатита С (приведено по Okamoto, 1994).

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-

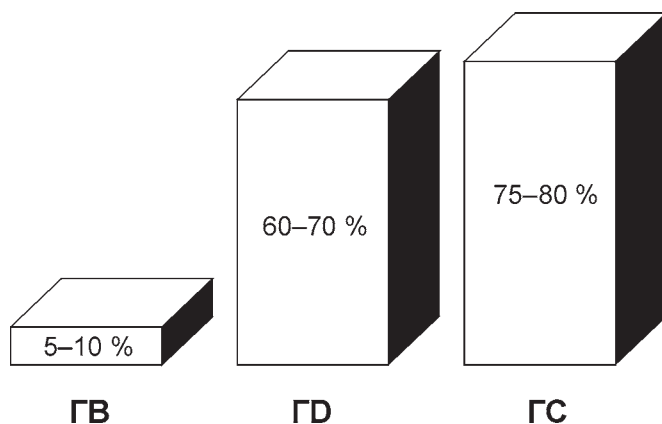
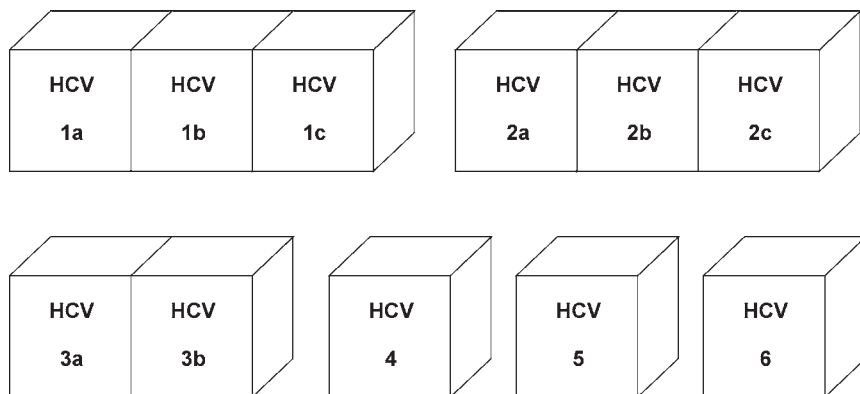


Рис.4. Сравнительная частота хронизации при ВГВ -, ВГД-, ВГС - инфекциях



*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.

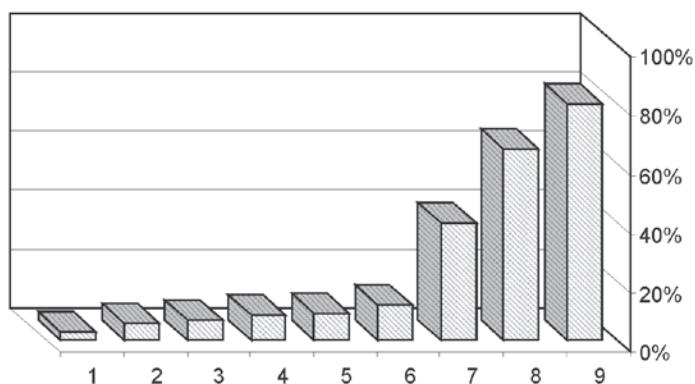


Рис.6. Частота ВГС у лиц, относящихся к группам риска

- 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



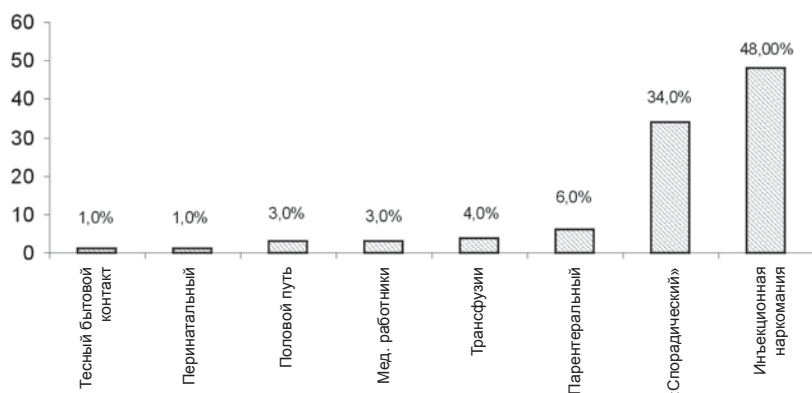


Рис.7. Факторы риска развития острого гепатита С

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

**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 <sub>4</sub>
2 поколение*	с 100-3, с 33-3, с 33 с	NS <sub>4</sub> , кор, NS <sub>3</sub>
3 поколение*	с 100-3, с 33-3, с 33 с, NS <sub>5</sub>	NS <sub>4</sub> , кор, NS <sub>3</sub> , NS <sub>5</sub>
4 поколение**	с 100-3, с 33-3, с 33 с, NS <sub>5</sub>	NS <sub>4</sub> , кор, NS <sub>3</sub> , NS <sub>5</sub>

\* 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-NS<sub>3</sub> выявляются на самых ранних этапах сероконверсии. В то время как анти-NS<sub>4</sub> и анти-NS<sub>5</sub>, 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 NS<sub>3</sub>-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-NS<sub>5</sub> 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



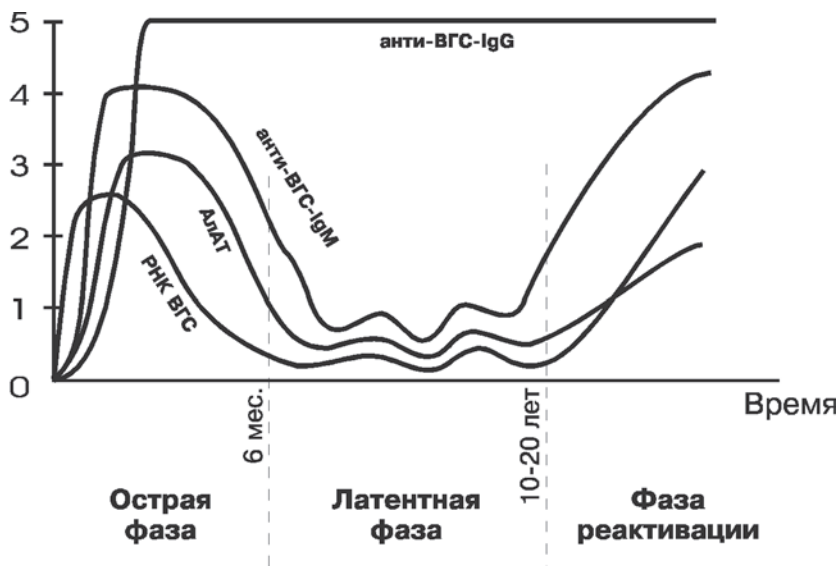


Рис. 8. Фазы течения заболевания (ГС)

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-NS<sub>3</sub>-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 (пастификация):**

- 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  $\alpha$ -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 <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 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.