

УДК 616.36-002-071

ОСОБЕННОСТИ СОВРЕМЕННОЙ ДИАГНОСТИКИ ГЕПАТИТА С

Л.И. Николаева, Г.В. Сапронов, Е.А. Лейбман

Представлена современная диагностика маркеров инфицирования вирусом гепатита С, основанная на выявлении РНК вируса с высокой чувствительностью, определении кор-антигена и специфических антител. В инструментальной и лабораторной диагностике фиброза печени стали применяться новые методы – фиброэластометрия и биохимическая биопсия.

Ключевые слова: гепатит С; диагностика; геном; антиген; антитела; фиброз печени.

MODERN FEATURES OF HEPATITIS C DIAGNOSTIC

L.I. Nikolaeva, G.V. Sapronov, E.A. Leybman

Modern features of hepatitis C diagnostic is based on detection of viral RNA with high sensitivity, determining core antigen and specific antibodies. New methods of fibroelastometry and biochemical biopsy have been used for instrumental and laboratory diagnostic of liver fibrosis.

Keywords: hepatitis C; diagnostic; genome; antigen; antibody; liver fibrosis.

Введение. До настоящего времени гепатит С остается одной из самых актуальных проблем гепатологии во всем мире. Отсутствие профилактической вакцины, частое формирование (до 80 %) хронического гепатита С (ХГС), скрытое течение острого и начальных стадий хронического гепатита приводят к тому, что для многих стран мира, в том числе и для России, эпидемическая ситуация с гепатитом С остается неблагоприятной. Суммарная численность инфицированных во всех странах приближается к 3 %, что в несколько раз больше количества ВИЧ-инфицированных людей [1].

Установлено, что продолжительность жизни больных ХГС, например, в США, сокращена на 8–12 лет, если у пациентов не было эффективного курса противовирусной терапии [2]. В Российской Федерации почти у 40 % больных ХГС через 20–25 лет после инфицирования выявляется цирроз печени [3]. Основная причина смертности пациентов с ХГС – декомпенсированный цирроз печени или гепатоклеточная карцинома. Наиболее эффективным способом улучшения качества жизни больных является ХГС – своевременная противовирусная терапия. Арсенал антивирусных препаратов в последние годы существенно увеличился, однако стоимость терапии остается высокой.

Данный обзор посвящен произошедшим в последние годы изменениям в лабораторной и инструментальной диагностике гепатита С, что,

в свою очередь, влияет на оценку эффективности лечения, на определение необходимости назначения терапии и более точное выявление инфицированных лиц.

Определение специфических вирусных маркеров. Важным этапом при постановке диагноза “гепатит С” является определение маркеров инфицирования, к которым относятся вирусная РНК, кор-антиген и антитела. РНК вируса гепатита С (ВГС) – наиболее ранний маркер инфицирования и показатель репликативной активности вируса (таблица 1). В лабораторной практике выявление РНК ВГС состоит из двух этапов: первый – это выделение нуклеиновых кислот, второй – накопление специфической вирусной РНК с помощью методов обратной транскрипции и полимеразной цепной реакции (ОТ-ПЦР). Чувствительность обнаружения РНК ВГС зависит в основном от первого этапа – выделения нуклеиновых кислот: каким методом оно выполняется и из какого количества биопробы. В начале 2000-х гг. в практическую диагностику стали внедряться методы выделения нуклеиновых кислот из большого объема (1 мл и более) биопробы на парамагнитных частицах, что позволило поднять чувствительность метода. В Российской Федерации в настоящее время она составляет 10–15 МЕ/мл. Такая чувствительность важна для оценки результатов противовирусной терапии.

Таблица 1 – ВГС-специфические маркеры, время их появления и чувствительность тест-систем

Маркеры	Время появления*	Вариант тест-систем	Чувствительность
РНК ВГС	1–2-я нед.	Реал-Бест РНК ВГС (Россия)	15 МЕ/мл
Кор-антиген	3-я нед.	Architect HCV Ag-assay (США)	3–20000 фемтоМоль/л
Анти-ВГС IgM	4–7-я нед.	РекомбиБест анти-ВГС IgM (Россия)	Титр 1:4, объем образца 20 мкл
IgG к белкам core, NS3	5–8-я нед.	Анти-ВГС – спектр (Россия)	Титр 1:2,5 (объем 40 мкл)
IgG к белкам NS4ab, NS5a	6–9-я нед.	Анти-ВГС – спектр (Россия)	Титр 1:2,5 (объем 40 мкл)

Примечание. * – указано время появления при внутривенном инфицировании.

Второй по времени появления вирусный маркер – это кор-антиген (см. таблицу 1). Он обнаруживается в крови на неделю позже РНК ВГС, но в период “серонегативного окна” при остром гепатите С. Поскольку существует риск ложных результатов при определении РНК ВГС, то обнаружение кор-антигена снимает все сомнения. Однако надо учитывать чувствительность тестов для определения кор-антигена. Она выше при хемиллюминесцентной детекции (до 3 фемтоМоль/л или 0,06 пикограмм/мл), чем при стандартном твердофазном иммуноферментном анализе, когда результат определения регистрируют по окислению хромогена пероксидазой хрена. При хемиллюминесцентной детекции нужен более дорогостоящий прибор. Между содержанием РНК ВГС в крови и количеством кор-антигена существует корреляция [4, 5]. Поэтому в ряду случаев можно установить содержание вирусной РНК по концентрации кор-антигена. Современные тест-системы позволяют определять кор-антиген при наличии антител к нему, чего не было в более ранних тестах.

Антитела к антигенам ВГС обнаруживают с помощью скрининговых иммуноферментных тест-систем и подтверждающих тестов. Обычно первичный анализ образца на наличие антител к ВГС делают в скрининговых тест-системах. Для подтверждения позитивности из “серой” зоны или более детального выявления антител ставят подтверждающий тест методом иммуноблотинга. Этот метод позволяет полностью исключить реакцию антител с примесными белками, которые могут присутствовать среди рекомбинантных вирусных белков в иммуноферментных тест-системах. Для выявления антител к отдельным антигенам ВГС используются тест-системы типа “Спектр”. Результаты такого анализа необходимы для решения вопроса об элиминации вируса из организма больного, для контроля эффективности терапии по исчезновению антител к белкам вируса, для оценки вероятности развития цирроза печени и разграни-

чения острого и хронического гепатита С по титрам антител [6].

Неинвазивные методы анализа развития фиброза печени. Фиброз печени – основной показатель патологических изменений в печени, когда пораженные гепатоциты замещаются соединительной тканью. Фиброз при хроническом гепатите С прогрессирует с годами, особенно, если у пациентов не было эффективной противовирусной терапии. Стадия фиброза печени играет решающую роль при выборе тактики ведения пациента и назначении терапии. Для оценки стадии фиброза долгое время проводили биопсию печени, однако она инвазивна и сопряжена с риском серьезных осложнений. В последнее время появились неинвазивные методы оценки стадии фиброза, среди которых наиболее достоверными являются: ультразвуковая эластография (фиброэластография) и биохимическая биопсия (она же фибротест), где оценку фиброза проводят по совокупности биохимических показателей.

Фиброэластографию печени в Российской Федерации начали проводить с 2006 г. Для проведения анализа необходим аппарат “Фиброскан” (производитель Echosense, Франция), который в течение нескольких минут определяет эластичность ткани печени, выражаемую в кПа. Метод основан на регистрации отраженного ультразвукового колебания средней амплитуды и низкой частоты. Ультразвуковой сигнал, проходя через ткань печени, приобретает сдвиг и изменяет скорость в зависимости от эластичности ткани печени. В процессе анализа исследуется эластичность 2–3 фрагментов правой доли печени размером 1 × 4 см на глубину до 6,5 см от поверхности кожи. (У людей с выраженной подкожной жировой клетчаткой определение невозможно из-за ограничения проникновения в глубину ультразвукового сигнала.) В результате анализа определяется средний показатель эластичности печени в кПа. Каждой стадии фиброза соответствует определенный диапазон кПа. Точность этого метода

определения фиброза печени оценивают в 89–99 %. Информативность метода наиболее высока при установлении стадии F4 (METAVIR).

Для определения стадии фиброза печени недавно предложен еще один неинвазивный метод – биохимическая биопсия, или фибротест. Разработчик – французская фирма “BioPredictive”. Анализируется венозная кровь натошак на определенные биохимические показатели и по запатентованному протоку производителя определяются стадии фиброза печени по шкале METAVIR. Достоинство метода – получение информации не только о стадии фиброза печени, но и степени воспалительной активности. Информативность метода наиболее высока при стадиях фиброза F0–F4. Длительность расшифровки из-за отсылки производителю около 1 недели, стоимость анализа высокая. Поэтому существуют альтернативные, но менее достоверные, подходы, где на основании показателей аланин- и аспаратаминотрансфераз, билирубина, ГГТ, апополипротеина A1, альфа-2-макроглобулина, массы тела и возраста пациента определяют: есть фиброз или нет, есть цирроз или нет, отдельные стадии фиброза [7].

Из вышеизложенного следует: в последние годы благодаря совершенствованию методов повысилась чувствительность определения РНК ВГС и стал использоваться новый диагностический маркер – кор-антиген. Появились неинвазивные методы оценки стадий фиброза печени, такие как фиброэластометрия и фибротест.

Литература

1. Mohd Hanafiah K., Groeger J., Flaxman A.D., Wiersma S.T. Global epidemiology of hepatitis C virus infection: new estimates of age-specific antibody to HCV seroprevalence // *Hepatology*. 2013. № 4. С. 1333–1342.
2. Center for Disease Control and Prevention. HCV // www.cdc.gov/hepatitis/HCV. Accessed 8 Oct 2010.
3. Самохвалов Е.И. Частота встречаемости отдельных субтипов вируса гепатита С в Московском регионе / Е.И. Самохвалов, Л.И. Николаева, С.В. Альховский и др. // *Вопросы вирусологии*. 2013. № 1. С. 36–40.
4. Park Y., Lee B.S., Kim B.S. et al. New automated hepatitis C virus (HCV) core antigen assay as an alternative to real-time PCR for HCV RNA quantification // *Clin. Microbiol.* 2010. Т. 48. С. 2253–2256.
5. Лейбман Е.А. Значение количественного определения core-антигена в сыворотке крови у детей с гепатитом С / Е.А. Лейбман, Л.И. Николаева, Г.В. Сапронов и др. // *Детские инфекции*. 2010. № 2. С. 8–12.
6. Nikolaeva L.I., Blokhina N.P., Tsurikova N.N. et al. Virus-specific antibody titers in different phases of hepatitis C virus infection // *J. Viral. Hepatitis*. Т. 9. С. 429–437.
7. Информация доступна на сайте: <http://fibrotest.narod.ru/>