

Диагностика ВГЦ

Денис Годлевский
Баку, Декабрь 2014

Виды диагностики

- Лабораторная
- Экспресс-диагностика
- Темы
 - Антитела/ Неструктурные белки
 - Полимеразная цепная реакция (ПЦР)
 - Генотипирование
 - Фибросканирование



Антиген

- **Антиген (antigen)** [начальные слоги двух слов: "АНТИтела ГЕНерация"; греч. *anti* — против и *genes* — порождающий, рождающийся] — структурно чужеродные для данного конкретного организма вещества , способные вызвать иммунный ответ.
- Носителями таких чужеродных веществ будут бактерии, вирусы, грибки, трансплантаты, опухолевые клетки.

Антитела

- В ответ на попадание в организм человека инородных частиц, таких, как вирусы, иммунная система вырабатывает иммуноглобулины — защитные **антитела**.
- Эти антитела выявляют специальным анализом методом ИФА , скрининговым исследованием, используемым для установления факта инфицирования человека ВГС.
- Для ВГС все антитела содержат аббревиатуру **anti-HCV**, что означает «против вируса гепатита С».

Антитела

- Антитела бывают двух классов — G и M, что в анализах пишется, как **IgG** и **IgM** (*Ig* — *immunoglobulin*) — это латинское название антител).
- Anti-HCV total (**anti-HCV, анти-hcv**) — суммарные антитела (классов IgG и IgM) к антигенам вируса гепатита С.
- Тест на определение этих маркеров проводится всем пациентам, когда хотят проверить, есть ли у них гепатит С.

Антигены

- **Anti-HCV** присутствуют как при остром (они могут обнаруживаться уже с 4 - 6 недели после инфицирования), так и при хроническом гепатите. **Anti-HCV total** также встречаются у тех, кто переболел гепатитом С и выздоровел самостоятельно.
- Поэтому положительный анализ на **anti-HCV** не является достаточным для того, чтобы установить диагноз. На фоне хронической инфекции суммарные антигены выявляются постоянно, а после успешного лечения сохраняются длительное время

Антигены

- Спектр anti-HCV (core, NS3, NS4, NS5) — это специфические антигены к отдельным структурным и неструктурным белкам вируса гепатита С.
- Их определяют для суждения о вирусной нагрузке, активности инфекции, риске хронизации, разграничении остого и хронического гепатита, степени поражения печени.
- Обнаружение антигелей к каждому из антигенов имеет самостоятельное диагностическое значение. Anti-HCV состоят из структурных (core) и неструктурных (NS3, NS4, NS5) белков (протеинов).

Антитела

- Anti-HCV core IgG —антитела **класса G** к ядерным (core) белкам HCV. Anti-HCV IgG появляются с 11-12 недели после инфицирования, поэтому для диагностики возможных «свежих» случаев инфицирования используют Anti-HCV total, которые появляются раньше.
- Anti-HCV IgG достигают пика концентрации к 5 - 6 месяцу с момента инфицирования и при хроническом течении болезни выявляются в крови пожизненно.

Антитела

- Anti-HCV IgM —антитела **класса IgM** к антигенам вируса гепатита С. **Anti-HCV IgM** могут определяться в крови уже через 4-6 недель после инфицирования, их концентрация быстро достигает максимума.
- После завершения острого процесса уровень **IgM** падает и может повышаться вновь во время реактивации инфекции, поэтому принято считать, что эти антитела являются признаком острой инфекции или хронической с признаками реактивации.
- При остром гепатите С длительное обнаружение антител класса M, является фактором, прогнозирующим переход заболевания в хроническую форму.

Антигепатитные антитела. Неструктурные белки

- NS3, NS4, NS5 относятся к неструктурным (NS — *nonstructural*) белкам. На самом деле, этих белков больше — NS2, NS3, NS4a, NS4b, NS5a, NS5b, однако в большинстве клинико-диагностических лабораторий определяют антиантигепатитные антитела к белкам NS3, NS4 и NS5.
- Anti-NS3 выявляются на самых ранних этапах сероконверсии. Высокие показатели anti-NS3 характерны при остром гепатите С и могут являться самостоятельным диагностическим маркером острого процесса.

Неструктурные белки

- При остром процессе высокая концентрация anti-NS3 обычно свидетельствует о значительной вирусной нагрузке, а длительное сохранение их в острой фазе связано с высоким риском хронизации инфекционного процесса.
- Anti -NS4 и anti-NS5, как правило, появляются в более поздние сроки.
-

Трактовка результатов

| anti-HCV IgM | anti-HCV core IgG | anti-HCV NS IgG | RNA HCV | Примечание | Трактовка результата |
|--------------|-------------------|-----------------|---------|---|--|
| + | + | - | + | Наличие клинико-лабораторных признаков острого гепатита, нарастанием титров anti-HCV core IgG | Острый гепатит С. |
| + | + | + | + | Наличие клинико-лабораторных признаков хронического гепатита | Хронический гепатит С, фаза реактивации |
| - | + | + | - | Отсутствие клинико-лабораторных признаков заболевания (при наличии сопутствующей патологии — возможно незначительное повышение активности аминотрансфераз) | Хронический гепатит С, латентная фаза |
| - | + | -/+ | - | Стойкое отсутствие клинико-лабораторных признаков заболевания, присутствие anti-HCV core IgG в титрах 1:80 и ниже, нормальные уровни трансаминаз (АЛТ, АСТ), возможно определение анти-HCV NS IgG в низких титрах с постепенным исчезновением этих антител в течение нескольких лет | Реконвалесцент (выздоровевший) острого гепатита С или латентная фаза хронического гепатита С |

ПЦР

- **Полимеразную цепную реакцию (ПЦР, PCR)** изобрёл в 1983 году Кэри Мюллис (американский учёный). Впоследствии он получил за это изобретение Нобелевскую премию. В настоящее время ПЦР-диагностика является, одним из самых точных и чувствительных методов диагностики инфекционных заболеваний.
- **Полимеразная цепная реакция (ПЦР) —** экспериментальный метод молекулярной биологии, способ значительного увеличения малых концентраций определённых фрагментов нуклеиновой кислоты (ДНК) в биологическом материале (пробе).

ПЦР

- В основе метода ПЦР лежит многократное удвоение определённого участка ДНК при помощи ферментов в искусственных условиях (*in vitro*). В результате нарабатываются количества ДНК, достаточные для визуальной детекции.
- При этом происходит копирование только того участка, который удовлетворяет заданным условиям, и только в том случае, если он присутствует в исследуемом образце

ПЦР

- Анализ РНК HCV (определение РНК вируса), часто называемый **ПЦР гепатита С** — это исследование крови, позволяющее выявить непосредственно генетический материал вируса гепатита (каждый вирус — это одна частица РНК).
- Этот тест чаще всего выполняется методом ПЦР, — отсюда и название **ПЦР гепатита С**.
Существуют качественный и количественный анализы на РНК ВГС.

ПЦР

- **Качественный анализ** указывает на наличие вируса в крови. Данный тест необходимо проводить всем пациентам, у кого обнаружены антитела к гепатиту С. Его результат может быть «обнаружено» или «не обнаружено».
- Референсные значения (значение, которое должно быть в норме) — «не обнаружено». Результат «обнаружено» может свидетельствовать о том, что вирус размножается и инфицирует все новые клетки печени. **Качественный тест ПЦР** имеет определенную чувствительность (10-500 МЕ/мл.).

ПЦР

- Количественный анализ ПЦР (вирусная нагрузка) — это тест на концентрацию вируса (виремию) в крови.
- Вирусная нагрузка — это количество единиц генетического материала (вирусной РНК), которая присутствует у Вас в определенном объеме крови (обычно это 1 мл, что соответствует 1 кубическому сантиметру). Это количество выражается в цифрах, единицы измерения МЕ/мл (международные единицы на миллилитр).

EASL 2014

Recommendations

- Anti-HCV antibodies are the first line diagnostic test for HCV infection (**Recommendation A1**)
- In the case of suspected acute hepatitis C or in immunocompromised patients, HCV RNA testing should be part of the initial evaluation (**Recommendation A1**)
- If anti-HCV antibodies are detected, HCV RNA should be determined by a sensitive molecular method (**Recommendation A1**)
- Anti-HCV positive, HCV-RNA negative individuals should be retested for HCV RNA 3 months later to confirm true convalescence (**Recommendation A1**)

Экспресс-диагностика

| Assay (Company) | Report | Price/test ^b | Sensitivity ^c | Specificity ^d | Indeterminate results ^f | Inter-reader variability ^g | Ease of performance ^h | Storage conditions ⁱ |
|--|-----------------|-------------------------|--------------------------|--------------------------|------------------------------------|---|----------------------------------|---------------------------------|
| | No ^a | USS (year) | (%) ^e | (%) ^e | (%) | (%) | | (°C) |
| Simple/Rapid tests | | | | | | | | |
| Advanced Quality™ One Step HCV Test (Bionike Inc.) | 1 | 1.20 (99) | 97.1 (89.8 - 99.6) | 96.3 (92.5 - 98.5) | 1.2 | 8.2 | VE | 2-30 |
| HCV TRI-DOT (J. Mitra & Co. Ltd.) | 1 | 2.00 (99) | 100.0 (94.7 - 100.0) | 91.5 (86.6 - 95.1) | 3.1 | 15.6 (test spot 1) 3.1 (test spot 2) | VE | 2-8 |
| Serodia® HCV (Fujirebio Inc.) | 1 | 4.50 (99) | 100.0 (94.7 - 100.0) | 99.5 (97.1 - 100.0) | 0.0 | 0.8 | E | 2-10 |
| HCV SP•T (Genelabs Diagnostics Pte Ltd.) | 1 | 2.50 (99) | 100.0 (94.7 - 100.0) | 93.7 (89.2 - 96.7) | 1.9 | 6.2 | E | 25 " 3 |
| SeroCard™ HCV (Trinity Biotech plc) | 1 | 2.25 (99) | 98.5 (92.1 - 100.0) | 100.0 (98.1 - 100.0) | 0.0 | 4.7 | E | 2-8 |
| Genedia® HCV Rapid (Green Cross Life Science Corp.) | 2 | 0.75 (00) | 98.5 (92.1 - 100.0) | 98.4 (95.4 - 99.7) | 1.6 | 5.1 | E | 2-30 |
| 4 th Generation HCV TRI-DOT (J. Mitra & Co. Ltd) | 2 | 2.00 (00) | 100.0 (94.7 - 100.0) | 98.9 (96.2 - 99.9) | 0.0 | 0.4 | VE | 4-8 |
| CHIRON* RIBA* HCV 3.0 (Chiron) (used as reference test) | 2 | 1.00 (00) | 100.0 (94.7 - 100.0) | not tested | 0.0 | not applicable | LE | 2-8 |
| INNO-LIA™ HCV Ab III update (Innogenetics) (used as reference test) | 2 | 0.63 (00) | 100.0 (94.7 - 100.0) | not tested | 0.0 | not applicable | LE | 2-8 |

Генотипирование

- Генотипирование (определение генотипа вируса) — один из самых важных анализов. Он позволит предсказать шансы на успешное лечение и поможет врачу определить необходимые дозы препаратов и длительность терапии.
- Важно знать, что наличие у вас вируса того или иного генотипа не значит, что болезнь протекает легче или тяжелее
- Однако разные генотипы по разному поддаются лечению

Генотипирование

- Также есть данные, что у пациентов с генотипом 3 чаще обнаруживается сопутствующее заболевание печени — стеатоз.
- Имеет ли значение субтипы генотипа (а, б)?

Нет, клинического значения субтипы не имеют.
Главное — определить сам генотип.

Неинвазивная диагностика

Фиброскан— сравнительно новая, неинвазийная методика, которая рассматривается как альтернатива биопсии печени.

В основу работы аппарата **Фиброскан** положена эластометрия печени — методика определения степени фиброза с помощью упругих волн.

Неинвазивная диагностика

- Ультразвуковые сигналы используются для измерения скорости распространения упругой волны в печени. На основании скорости определяется эластичность печени.
- Полученный результат выражается в килопаскалях (kPa) и позволяет оценить стадию заболевания от F0 до F4 по системе METAVIR. Процедура безболезненна и занимает несколько минут. Результаты отображаются на мониторе и заносятся в базу данных пациентов, карту и т.п.

Интерпретация

- F0 – менее 6.2 Кпа - нет фиброза
- F1 - 6.2-8.3 Кпа - минимальные изменения печени
- F2 - 8.3-10.8 Кпа - умеренные изменения печени
- F3 - 10.8-14 Кпа - выраженные изменения печени
- F4 - более 14 Кпа - цирроз печени

Дополнительная информация

- <http://www.hv-info.ru/gepatit-s/analyz/fibrotest.html>
- <http://www.alere.com/ww/en/product-details/immunocomb-hcv.html>
- <http://www.easl.eu/newsroom/latest-news/easl-recommendations-on-treatment-of-hepatitis-c-2014>