



# *Диагностика ВГЦ*

**Денис Годлевский**  
СПб, Июнь 2015

# Виды диагностики

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



# Антиген

- **Антиген (antigen)** [ начальныe 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.

# Антитела

- **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 антитела выявляются постоянно, а после успешного лечения сохраняются длительное время



# Антитела

- **Спектр anti-HCV** (core, NS3, NS4, NS5) — это специфические антитела к отдельным структурным и неструктурным белкам вируса гепатита С.
- Их определяют для суждения о вирусной нагрузке, активности инфекции, риске хронизации, разграничении острого и хронического гепатита, степени поражения печени.
- Обнаружение антител к каждому из антигенов имеет самостоятельное диагностическое значение. Anti-HCV состоят их 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. При перенесенном гепатите С показатель антител класса IgG постепенно снижается и может достигнуть неопределяемых величин через несколько лет после выздоровления.

# 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 М, является фактором, прогнозирующим переход заболевания в хроническую форму.



# 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 клинично-диагностических лабораторий определяют 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 aminотрансфераз)	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 anti-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 2015 (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 <sup>b</sup>	Sensitivity <sup>c</sup>	Specificity <sup>d</sup>	Indeterminate results <sup>f</sup>	Inter-reader variability <sup>g</sup>	Ease of performance <sup>h</sup>	Storage conditions <sup>i</sup>
	No. <sup>a</sup>	US\$ (year)	(%) <sup>e</sup>	(%) <sup>e</sup>	(%)	(%)		(°C)
<b>Simple/Rapid tests</b>								
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 <sup>th</sup> 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 субтип генотипа (а,б)?

Нет, клинического значения субтип не имеет.  
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 (кПа) 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/analizy/fibrotest.html>
- <http://www.alere.com/ww/en/product-details/immunocomb-hcv.html>
- <http://ilc-congress.eu/scientific-info/etools-ebooks-ilc2015/>

