Awareness Improvement Mobilization

Обзор вирусных гепатитов

Денис Годлевский
Свилен Конов

Октябрь 2015

European AIDS Treatment Group

Awareness, Improvement, Mobilization (AIM):
Углубление знаний по лечению ВИЧ и сопутствующих инфекций
(гепатит С и туберкулез)

ITPCru
Международная коалиция по готовности к лечению
Восточная Европа и Центральная Азия

ГЕПАТИТЫ

От греческого: ἡπατῖτις – воспаление печени.

- Инфекционные: A, B, C, D, E, F, G
- Токсические: алкогольный, лекарственный, химический и т.п
- Лучевой
- Как следствие аутоимунных заболеваний

ГЕПАТИТ В

- 8 генотипов
- Высокая устойчивость и инфекционность.

- Гематогенный путь передачи, половой (30%), от матери ребенку во время родов.

- Распространенность в регионе высока, в частности Средняя Азия, Закавказье, Молдова (ВОЗ).

- 2 формы: острая и хроническая. В около 90% из случаев острый гепатит В заканчивается полным выздоровлением и в около 10% приводит к хронической форме.

ГЕПАТИТ В. Признаки и симптоматика

- Инкубационный период составляет от 2 до 6 месяцев
- Общие симптомы: желтуха, потемнение мочи (цвет крепкого черного чая и пенится), просветление кала, чувство дискомфорта в правом подреберье, тошнота, температура
- Анализ крови на антиген становится положительным спустя 1-9 недель от заражения

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.

Лечение

- При остром гепатите В – только поддерживающая дезинтоксикационная терапия
- При хроническом гепатите В-пегилированный интерферон альфа 2а (в течение 1 года) или тенофовир/ентекавир (ламивудин)

Осторожно! Вирус гепатита В может развить резистентность к антивирусным препаратам, так что приверженность важна!

ПРОФИЛАКТИКА И ЗАЩИТА

- Вакцинация: Енджерикс В, Комбиотех, Эувакс и др.
- Схема введения обычно триразовая: раз, потом месяц после, и потом – 5 месяцев после второй инъекции
- 1 мл вакцины вводится внутримышечно (в дельтовидную мышцу плеча)
- В педиатрии: первый укол в первых 12 часов жизни, второй – в возрасте одного месяца и третий – в возрасте 6 месяцев.

ГЕПАТИТ С

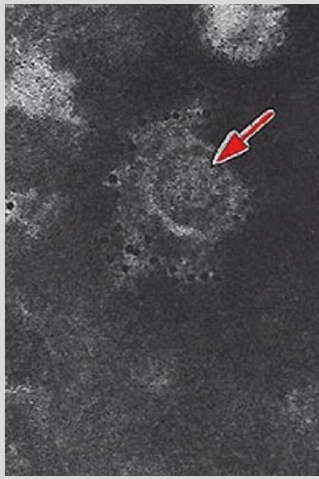
- Открыт в 1989

- Высокая устойчивость и инфекционность, но менее устойчив, чем гепатит В

- Гематогенный путь передачи, но и половой (3-5%) и от матери ребенку во время родов (<5%). Вирус присутствует в материнском молоке, но риска заражения нет, если нет повреждений кожи груди.

- Известны 6 основных генотипов и множество подвидов

- Распространенность: в регионе лидируют Россия и Украина



ГЕПАТИТ С

- Антитела (устанавливает только факт инфицирования сейчас или в прошлом, но не показывает было ли самоизлечение) – антитела появляются до 3 месяцев после инфицирования при около 90% из случаев

- В ответ на попадание в организм человека антигена, например вируса, иммунная система вырабатывает иммуноглобулины — защитные **антитела**.

- Эти антитела выявляют методом ИФА.

- Для ВГС все антитела содержат аббревиатуру **anti-HCV**, что означает «против вируса гепатита С».

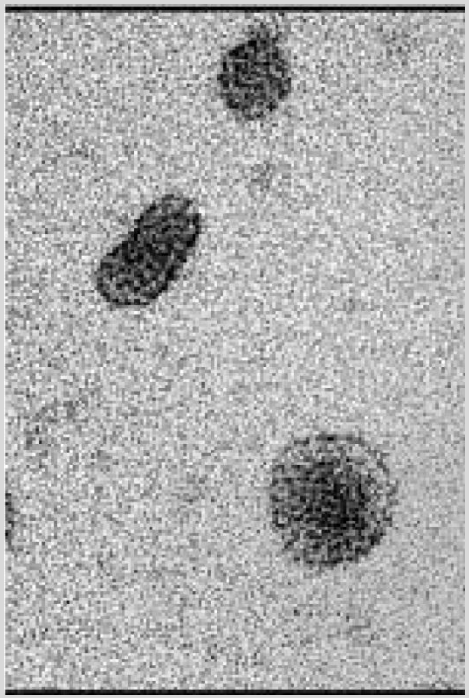
ГЕПАТИТ С

- Вероятность самоизлечения составляет до 30%. Выздоровление от 6 до 12 месяцев после заражения
- Острая и хроническая форма заболевания. Переход происходит постепенно и не зависит от силы проявления острой формы.
- Со временем развивается фиброз (F1–F4). Без лечения около 20% случаев развивают цирроз (F4) и гепатоцелюлярную карциному (рак печени).

ГЕПАТИТ С

- Инкубационный период составляет от 20 до 140 дней
- Общие симптомы: тошнота, отсутствие аппетита, боли в суставах, желтуха, гепатоспленомегалия
- **ВАЖНО**: антитела остаются на всю жизнь даже если человек излечился
- Человек может перезаразиться другим генотипом или даже несколькими разными генотипами после успешного окончания курса лечения
- Нет вакцины

ГЕПАТИТ D



- Относится к дельтавирусам, но имеет дефект в РНК и нуждается в вирусе гепатита В, чтобы реплицироваться

- Пути заражения: как и при гепатите В

- Обнаружены 3 генотипа (8 по другим данным)

- Отличаем понятия “суперинфекция” (когда заражение произошло уже при наличии инфекции с В) и “ко-инфекция” (когда они попали вместе в организм)

ОБЩИЕ СВЕДЕНИЯ ПО ГЕПАТИТУ D

- Анализ: серологический

- Лечение: интерферон, но только снижает интенсивность вреда у около 30% случаев

- Профилактика: вакцина против B защищает от D, так как D нуждается в B, чтобы существовать

Диагностика ВГС

Денис Годлевский
Свилен Конов

Октябрь 2015

Виды диагностики

- Лабораторная
- Экспресс-диагностика

- Темы
  - Антитела/Неструктурные белки
  - Полимеразная цепная реакция (ПЦР)
  - Генотипирование
  - Фибросканирование
  - ЭТ. Чувствительность и специфичность

Антитела

- Антитела бывают двух классов — G и M, что в анализах пишется, как **IgG** и **IgM** (Ig – *immunoglobulin*).
- **Anti-HCV –**это суммарное определение уровня 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** 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, E, 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 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 повышается 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

- 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, 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. Неструктурные белки

- NS3, NS4, NS5 относятся к неструктурным (NS — *nonstructural*) белкам. На самом деле, этих белков больше, однако в большинстве клинико-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.

.

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.).

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

- Количественный анализ ПЦР (вирусная нагрузка) — это тест на концентрацию вируса (виремию) в крови.

- Вирусная нагрузка — это количество единиц генетического материала (вирусной РНК), которая присутствует 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)**

Быстрые тесты\ Rapid testing

- Экспресс (быстрые) тесты применяются для выявления антител в слюне, крови, сыворотке и плазме крови.
- Выполняется значительно быстрее, чем лабораторное обследование (10-20 минут).
- Для быстрых тестов не требуется измерительное оборудование.
- Результаты оцениваются визуально.
- Не требуется длительное обучение персонала.
- Быстрые тесты могут применяться в местах, не оснащённых специальным оборудованием.

© Stephan Dressler 2015

Быстрые тесты\ Rapid testing

Специфичность диагностического теста – это доля верно определенных тестом заведомо отрицательных образцов.

Для определения специфичности теста необходимо взять несколько тысяч заведомо здоровых людей и проверить их при помощи теста.

Если на каждые 1000 образцов будет получено 10 ложных положительных результатов – то специфичность теста составит: (1000-10)/1000*100%=99%.

Быстрые тесты\ Rapid testing

- **Чувствительность диагностического теста** – это доля верно определенных тестом заведомо положительных образцов.

Иными словами, если мы возьмем 100 достоверно ВИЧ-инфицированных людей, проверим их тестом и получим 100 положительных результатов, то чувствительность теста будет равна 100%. Практически у всех тестов на рынке чувствительность 100%.

Экспресс-диагностика

Assay (Company)	Report No [a]	Price/test[b] US$ (year)	Sensitivity[c] (%)[e]	Specificity [d] (%)[e]	Indeterminate results[f] (%)	Inter-reader variability[g] (%)	Ease of performance[h]	Storage conditions[i] (°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
4th 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

Генотипирование

- Однако разные генотипы по разному поддаются лечению пегилированными интерферонами
- С появлением нового лечения это становиться менее важным, поскольку мы в паре шагов от доступности пангенотипического препарата для лечения гепатита С

Генотипирование

- Также есть данные, что у пациентов с генотипом 3 чаще обнаруживается сопутствующее заболевание печени — стеатоз («ожирение печени»).

- *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 (kPa) и позволяет оценить стадию заболевания от F0 до F4. 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/