



І.В. Євстігнєєв

Дніпропетровська державна медична академія

Серологічні і молекулярно-біологічні методи діагностики вірусних гепатитів В і С

Ключові слова

Вірусний гепатит В, вірусний гепатит С, серологічні і молекулярно-біологічні методи діагностики.

Вірусні гепатити — медична і соціальна проблема глобального масштабу. Для цієї патології характерним є прогресуючий тривалий перебіг, у деяких випадках — прихованість клінічних симптомів хронічних уражень печінки протягом тривалого часу. Хронічний вірусний гепатит В (ХВГ-В) і хронічний вірусний гепатит С (ХВГ-С) можуть перебігати із субклінічними виявами, переважно з астеноневротичними розладами, втомлюваністю, періодичним дискомфортом у правому підбер'язі та епігастрії, диспепсією [3, 5]. В анамнезі часто відсутні дані про перенесений гострий гепатит. Через відсутність або мінімальну маніфестацію клінічних симптомів пацієнти не звертають уваги на хворобу протягом тривалого часу. Тільки гепатомегалія і підвищення рівня трансаміназ зазвичай є підставою для лікаря провести діагностику хронічних гепатитів вірусної етіології [2, 4]. Однак гепатомегалія може бути виражена незначною мірою, а рівень трансаміназ на певних етапах може не бути підвищеним. Це стосується інapparent форм гепатиту (inapparent hepatitis), для яких притаманні відсутність клінічних виявів, змін біохімічних показників. Діагностують такі варіанти перебігу за наявністю маркерів інфекції.

У 10–20 % хворих на ХВГ-В і у 45–50 % — на ХВГ-С реєструють позапечінкові клінічні вияви [5]. Такі симптоми характерні переважно для осіб, схильних до автоімунних реакцій. Своєчасну діагностику хронічних вірусних уражень печінки ускладнює домінування позапечінко-

вих симптомів над субклінічними ознаками ураження печінки.

Васкуліти, ураження нирок можуть виникати як при ХВГ-С, так і рідко при ХВГ-В. Артралгія, пурпура, синдром Рейно, ураження нирок часто є виявами змішаної кріоглобулінемії при ХВГ-С. Іншими позапечінковими виявами можуть бути: ендокринні (гіпертиреоз, гіпотиреоз, автоімунний тиреоїдит), гематологічні (апластична анемія, ідеопатична тромбоцитопенія), шкірні (вузлувата еритема, пізня шкірна порфірія) тощо. Все це свідчить про важливість застосування діагностичних маркерів для своєчасної діагностики і лікування.

Особливої уваги заслуговують особливості перебігу ХВГ-С з нормальним рівнем аланінаміно-трансферази (АЛТ) при неодноразовому її визначенні. Титр РНК HCV у хворих з нормальним рівнем АЛТ нижчий, ніж при підвищенні рівня АЛТ [8]. У 2/3 пацієнтів з нормальним рівнем АЛТ відмічається портальний фіброз. Кореляція між вихідним рівнем АЛТ, титром РНК HCV і результатами гістологічних досліджень відсутня.

Маркери діагностичні

Це маркери інфікування, антигени, антитіла і нуклеїнові кислоти, виявлення яких дає змогу встановити етіологію вірусного гепатиту і/або присутність вірусу, характеризувати перебіг інфекції, прогнозувати її наслідки, оцінити ефективність лікування, поствакцинальний імунітет, встановити, чи не було в анамнезі вірусного гепатиту.

Серологічні методи дослідження

Специфічна діагностика вірусних уражень печінки включає: 1) серологічні дослідження; 2) молекулярно-біологічні (якісні, кількісні, генотипування). Обстеження пацієнтів починають із застосування серологічних методів для визначення антитіл до різних білків вірусів. Найчастіше з цією метою застосовують імуноферментний аналіз (ІФА), в якому використовують діагностичними Elisa III покоління [6].

Особливе значення для етіологічної діагностики і прогнозу захворювання мають результати виявлення серологічних маркерів інфікування вірусом гепатиту В (HBV), основними з яких є: HBsAg, анти-HBs, анти-HBcIgM, анти-HBcIgG, HBeAg і анти-HBe. Ці маркери послідовно з'являються і зникають під час перебігу інфекції та одужання. При гострому вірусному гепатиті В (ГВГ-В), як і при ХВГ-В, важливим серологічним маркером є поверхневий антиген HBV.

Hepatitis B surface antigen-HBsAg. Стан носійства HBsAg може тривати до 10 і більше років, у деяких випадках — усе життя. Щорічно у 1–2 % носіїв HBsAg відбувається спонтанна елімінація цього антигену (зазвичай до 40-річного віку). Про хронізацію гепатиту В свідчить постійне виявлення HBsAg у сироватці крові протягом 6 міс після інфікування.

Поява мутантних форм HBV, у яких відсутній HBsAg, спричиняє втрату толерантності з елімінацією HBV за допомогою цитотоксичних Т-лімфатичних і натуральних кілерів (НК-клітин), які руйнують інфіковані гепатоцити. При ГВГ-В HBsAg виявляється на 3–5-му тижні від початку інфікування, у більшості випадків — без інших маркерів. В інкубаційному, продромальному періоді і на початку жовтяниці відбувається поступове зростання титру HBsAg, який досягає максимальних значень після початку підвищення рівня трансаміназ. Швидке зникнення (у перші дні жовтяниці) HBsAg з появою анти-HBs, які належать до IgM, може бути несприятливою прогностичною ознакою. У деяких випадках ці зміни випереджають виникнення фульмінантного гепатиту (Fulminant hepatitis) — особливо тяжкої форми гепатиту з масивним некрозом гепатоцитів і розвитком печінкової коми.

Фульмінантний гепатит може спричинятися тільки HBV, але серед пацієнтів з HBsAg-позитивним фульмінантним гепатитом багато з дельта-вірусною інфекцією. Поступова елімінація і поява анти-HBs — одна з основних серологічних ознак одужання пацієнта. Анти-HBs виявляють у сироватці крові пацієнта не одразу після зникнення з неї HBsAg. Період, протягом якого не вдається ідентифікувати ні HBsAg, ні анти-HBs,

називається фазою «вікна» (window period). Тривалість періоду до першого виявлення анти-HBs після зникнення HBsAg може становити від 3–4 тиж до 1 року. В цей період єдиним маркером, який можна виявити у сироватці крові, є анти-HBe. Одночасне визначення у серологічному скринінгу HBV HBsAg і анти-HBe підвищує можливості діагностики. Особливо це стосується фази «вікна».

Анти-HBcIgM утворюється через 1–2 тиж після першої появи HBsAg. Ці антитіла виявляють в усіх хворих на ГВГ-В, а у 5–20 % пацієнтів є єдиним серологічним маркером інфекції. На початку захворювання і протягом 2–18 міс у сироватці крові виявляють анти-HBcIgM. Наявність анти-HBcIgM у більшості хворих свідчить про гостру інфекцію HBV, однак у короткотривалому періоді анти-HBcIgM можна виявити при загостренні ХГВ у меншому титрі.

Анти-HBcIgG у сироватці крові виявляють після анти-HBcIgM. Вони присутні практично в усіх пацієнтів, які перенесли ГВГ-В, часто протягом усього життя. Крім HBsAg, анти-HBcIgM, анти-HBcIgG, при ГВГ-В виявляють HBeAg і анти-HBeAg. HBeAg у крові виявляють тільки за наявності HBsAg. У перший тиждень періоду жовтяниці HBeAg у більшості хворих виявляють одночасно з HBsAg або через 1 тиждень. При ГВГ-В аналіз на HBsAg практично завжди позитивний, виявляють HBeAg і ДНК HBV, анти-HBe відсутні. Прогностичне значення має тривалість циркуляції HBeAg. Виявлення HBeAg через 2 міс і більше після початку ГВГ-В зазвичай свідчить про високу ймовірність трансформації у ХВГ-В. У більшості хворих на ГВГ-В відбувається сероконверсія від HBeAg до анти-HBe. Через 2,0–2,5 тиж після початку гострої інфекції HBeAg у більшості хворих не виявляють, а визначають лише анти-HBe. Протягом тривалої реконвалесценції анти-HBe можуть з крові зникати. Якщо хворий інфікований тільки мутантними штамми HBV, при якому відсутній HBeAg, анти-HBe у крові не виявляють. У пізній фазі ГВГ-В у більшості хворих HBeAg у крові відсутній, виявляють анти-HBe і ДНК HBV.

У пацієнтів з відсутністю клінічних симптомів гепатиту, з негативним результатом визначення HBeAg, вірусним навантаженням $< 10^5$ копій/мл, при нормальному рівні трансаміназ лікування у більшості випадків не показане. Серологічними критеріями ефективності лікування у хворих з наявністю HBeAg є зникнення з крові HBeAg, поява анти-HBe і зниження вірусного навантаження на два порядки і більше.

ДНК HBV — маркер наявності вірусного гепатиту В та його активної реплікації. Присутність у

крові HBeAg і ДНК HBV свідчить про активне розмноження вірусу. ДНК HBV визначають за допомогою полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) або ДНК-гібридизації (cDNA hybridization). Остання виявляє нуклеїнові кислоти за допомогою гібридизаційних зондів, що дає змогу визначити повномірну нуклеїнову кислоту або її фрагменти з послідовностями, комплементарними наявним зондам.

Якщо захворювання триває понад 6 міс, то його розцінюють як ХВГ-В. У перебігу ХВГ-В розрізняють три фази (періоди):

- фазу імунної толерантності (реплікативна фаза) — у сироватці крові виявляють HBsAg, HBeAg, ДНК HBV;
- фазу імунного цитолізу (сероконверсії), на якій відбувається лізис гепатоцитів, на мембрані яких присутній HBsAg; у крові спостерігається сероконверсія від HBeAg до анти-HBe;
- фазу інтеграції — у частини хворих лізис інфікованих гепатоцитів не відбувається; ДНК HBV інтегруються у геном гепатоциту; рівень реплікації вірусу зменшується, синтез HBsAg триває місяці й роки.

Визначають три серологічних варіанти ХВГ-В: 1) ХВГ-В з мінімальною активністю; 2) HBe-негативний ХВГ-В; 3) HBe-позитивний ХВГ-В. Для ХВГ-В з мінімальною активністю притаманні такі маркери: а) наявність HBsAg у сироватці крові понад 6 міс; б) відсутність у крові HBeAg і наявність анти-HBe; в) наявність ДНК-HBV у сироватці крові у концентрації $< 10^5$ копій/мл ($2,0 \cdot 10^3$ МО/мл); нормальний рівень АЛТ/АСТ; д) відсутність гістологічних ознак запальних змін під час проведення біопсії печінки.

Для HBe-негативного ХВГ-В характерні такі маркери: а) наявність HBsAg; б) відсутність HBeAg і наявність анти-HBe; в) концентрація вірусу $> 10^5$ копій/мл ($2,0 \cdot 10^3$ МО/мл); г) виявлення ДНК-HBV методом молекулярної гібридизації; д) підвищення рівня АЛТ у 1,5 разу вище норми; е) наявність гістологічних ознак запалення у печінці.

HBe-позитивний ХВГ-В має такі маркери: а) наявність HBsAg; б) наявність HBeAg, у подальшому можлива спонтанна сероконверсія HBeAg у анти-HBe; в) концентрація вірусу $> 10^6$ копій/мл ($2,0 \cdot 10^4$ МО/мл); г) виявлення ДНК-HBV методом молекулярної гібридизації; д) підвищення рівня АЛТ в 1,5 разу від норми; е) наявність гістологічних ознак запального процесу у печінці.

Серологічний профіль ХВГ-В певною мірою визначається наявністю «дикого», або «мутантного», вірусу гепатиту В. При інфікуванні «диким» штамом HBV HBsAg може визначатися у

сироватці крові протягом багатьох років. Одночасно з HBsAg у крові виявляють анти-HBs. Титри HBcIgM нижчі, ніж при ГВГ-В. Наявність HBeAg і ДНК HBV — показники реплікації вірусу.

HBeAg — маркер, асоційований з високою інфекційністю сироватки крові та ризиком перинатальної передачі HBV, анти-HBs — маркер, який свідчить про раніше перенесену інфекцію або про наявність післявакцинальних антитіл, анти-HBcIgM — маркер активної реплікації HBV, анти-HBcIgG — маркер, який свідчить про раніше перенесену інфекцію HBV, анти-HBe — маркер, який характеризує можливу завершену реплікацію HBV (за винятком мутантних форм HBV).

При інфікуванні мутантним по pre-core зоні ДНК HBV серологічний профіль має певні відмінності від серологічних маркерів за наявності «дикого гепатиту». У мутантного штаму припиняється синтез HBeAg. Частота формування цирозу печінки у хворих з ХВГ-В із (анти-HBe+/ДНК HBV+) серологічним профілем вища, ніж у хворих з (HBeAg +/ДНК HBV+) серологічним профілем, характерним для інфікування мутантним штамом. Наявність анти-HBe одночасно з маркерами активної реплікації HBV у хворих з мутантним штамом (відсутність HBeAg) пояснюється більш раннім інфікуванням «диким» штамом вірусу з наступною сероконверсією від HBeAg до анти-HBe.

При гепатиті С виявляють такі маркери: анти-HCVIgM (маркер активної реплікації), анти-HCVIgG (свідчить про можливу наявність HCV або про попередню зустріч з антигеном), РНК HCV — (маркер наявності HCV та його активної реплікації). У 30 % хворих гострий вірусний гепатит С (ГВГ-С) переходить у хронічну форму із стабільним перебігом, у 40 % — має прогресуючий характер, у 30 % спостерігається тяжка форма зі швидко прогресуючим перебігом.

У хворих з ГВГ-С спочатку методом ІФА визначають антитіла IgM до HCV. Якщо результат дослідження негативний, то виконують якісну ПЛР на РНК HCV, яку вдається виявити вже через кілька днів після інфікування. При ХВГ-С визначають сумарні антитіла анти-HCV. При ГВГ-С виявляються анти-HCVIgM, при ХВГ-С або при одужанні протягом певного періоду — анти-HCVIgG. Анти-HCVIgM можуть бути наявні при загостренні ХВГ-С у менших титрах, ніж при ГВГ-С. На відміну від HBV-інфекції, антитіла при HCV-інфекції починають вироблятися через 8 тиж після інфікування. Тому відсутність загальних антитіл до HCV не завжди виключає інфекційний процес.

У хворих з хронічним гепатитом або підвищеною активністю АЛТ досліджують сироватку

крові на антитіла до HCV методом ІФА. Цей метод є основним у скринінгу HCV. Чутливість його у разі застосування діагностиків Elisa III покоління становить 97 %. Майже всі результати є істинно позитивними, для підтвердження результатів проводять кількісну ПЛР для визначення РНК HCV. Одержана інформація дає змогу оцінити відповідь на лікування. Якщо антитіла сумарні (IgM + IgG) в ІФА визначаються, а результат кількісної ПЛР негативний, то необхідно провести більш чутливу якісну ПЛР.

Якщо у пацієнта визначаються антитіла до HCV і нормальний рівень АЛТ, то повторне дослідження на антитіла проводять за допомогою імуноблотингу. При позитивних або невизначених результатах проводять якісну ПЛР як більш чутливу. У випадках, коли виявляються антитіла до HCV і якісна ПЛР негативна, можна вважати, що інфекція перенесена в минулому і сформовано стійкий імунітет. Те саме стосується позитивного результату виявлення антитіл до HBV і негативного результату якісної ПЛР до ДНК HBV. Однак існують ще три причини негативної якісної ПЛР для визначення РНК HCV або ДНК HBV за наявності антитіл до HBV або HCV:

1. Хибнонегативний результат дослідження генома вірусу за допомогою ПЛР.
2. Хибнопозитивний результат виявлення антитіл.
3. Транзиторна або постійно низька віремія.

Під час визначення анти-HCV іноді реєструють хибнопозитивну реакцію. Це частіше стосується пацієнтів з алкогольним ураженням печінки та аутоімунним гепатитом. У цих хворих хибнопозитивні результати корелюють з рівнем гіперглобулінемії. З іншого боку, при первинних та вторинних імунодефіцитах порушується синтез антитіл у печінці та знижується їхній вміст у крові. Тому результат визначення антитіл до HBV або HCV може бути хибнонегативним. У таких випадках визначення РНК HCV або ДНК HBV підтверджує діагноз.

Для диференціювання хибнопозитивних результатів від істиннопозитивних розроблені додаткові тести. Основним є метод імуноблотингу (immunoblotting) або вестерн-блотингу (Western blotting). Результати цього методу трактують як позитивні, невизначені і негативні. Позитивний результат може бути і після одужання. Вестерн-блотинг використовують при HCV-інфекції для з'ясування причин хибнопозитивного результату тесту на наявність антитіл до HCV при позитивному результаті тесту на наявність РНК HCV. Цей метод дає змогу виявляти антитіла до структурних (E1 і E2/NS1 — envelope protein, core protein) і неструктурних (NS (non-structural) —

NS2, NS3, NS4 в NS5f, NS5b) білків. Негативний результат імуноблотингу при попередньому позитивному результаті визначення антитіл до HCV у тесті ІФА свідчить про те, що останній результат є хибнопозитивним, подальше обстеження не проводять. Якщо результат виявлення антитіл до HCV позитивний, дві якісні ПЛР з виявлення РНК HCV негативні і результат імуноблотингу позитивний, то це свідчить про одужання пацієнта, подальше обстеження не проводять.

Анти-HCVIgM виявляють у гострому періоді хвороби, після перенесеної гострої інфекції, анти-HCVIgG — при ХВГ-С. При ХВГ-С анти-HCVIgM може виявлятися у меншій концентрації при загостренні. У разі одужання анти-HCVIgM зникають з сироватки крові протягом 2 міс, анти-HCVIgG визначаються у крові протягом 4–8 років з поступовим зниженням титру, низькі титри неможливо виявити сучасними тестами ІФА.

При ХВГ-С у сироватці крові постійно реєструють анти-HCVIgG і РНК HCV, при загостреннях — низькі титри анти-HCVIgM. У деяких хворих (з імунодефіцитними станами) за відсутності анти-HCVIgM і анти-HCVIgG може виявлятися РНК HCV. У латентну стадію за відсутності чітких клінічних симптомів анти-HCVIgG і РНК HCV виявляють у низьких титрах, анти-HCVIgM відсутні. Фазі реактивації ХВГ-С притаманна значна концентрація анти-HCVIgM і РНК-HCV і невелика — анти-HCVIgG.

Зниження рівня анти-HCVIgM під час проведення лікування може свідчити про його ефективність при ХВГ-С. Таким чином, при ХВГ-С доцільно визначати ІФА як анти-HCVIgM (концентрація підвищується при загостренні), так і анти-HCVIgG (підтверджує сероконверсію, зміна титру може свідчити про ефективність лікування). У хворих з порушенням імунітету, у яких підозрюють наявність гепатиту С, при негативних результатах дослідження на антитіла методом ІФА необхідно провести якісну реакцію на РНК HCV за допомогою ПЛР.

Молекулярно-біологічні методи дослідження

На другому етапі специфічної діагностики проводять молекулярно-діагностичні дослідження: а) якісні; б) кількісні; в) генотипування. Виявлення ДНК HBV і РНК HCV — «золотий» стандарт у діагностиці гепатитів В і С і підтвердженні позитивних результатів виявлення анти-HBV і анти-HCV. Для індукції ДНК HBV або РНК HCV застосовують якісні та кількісні методи ПЛР. Якісні методи ПЛР більш чутливі, ніж

кількісні, їм надають перевагу при первинному обстеженні хворих. Кількісні методи ПЛР важливі під час проведення інтерферонотерапії, визначенні її ефективності з урахуванням динаміки вірусного навантаження. Так, при повній або постійній відповіді на інтерферонотерапію за допомогою кількісних методів реєструють відсутність ДНК HBV або РНК HCV протягом не менше ніж 6 міс після завершення терапії. Непостійна (транзиторна) відповідь означає, що ДНК HBV і РНК HCV у кінці інтерферонотерапії відсутні, але після її завершення знову виявляються. Відсутність відповіді — це збереження маркерів активної реплікації вірусу на попередньому рівні вірусного навантаження.

Якісні методи виявлення ДНК HBV або РНК HCV ґрунтуються на ампліфікації нуклеїнових кислот (ПЛР) або транскрипційній ампліфікації (ТАМ), кількісні — на ампліфікації нуклеїнових кислот (ПЛР або ТАМ) або сигналу (метод розгалуженої ДНК). Для оцінки вмісту вірусу у сироватці крові доцільно застосовувати стандартизовані одиниці (МО/мл). Визначення вірусного навантаження у кількості копій в 1 мл значно поступається такому в стандартизованій одиниці.

Вірусне навантаження під час визначення РНК HCV вважають високим, якщо кількість вірусу HCV перевищує 800 000 МО/мл. Кількісне визначення вірусу доцільно здійснювати тільки у випадках, коли планується проведення протівірусної терапії препаратами інтерферону та аналогами нуклеозидів. Тільки така терапія може сприяти значному зниженню вмісту вірусу у крові, що фіксується у динаміці кількісними реакціями ПЛР, ТАМ або методом розгалуженої ДНК. Гепатопротектори, індуктори інтерферону та інші препарати не можуть забезпечити значне зниження вірусного навантаження на відміну від інтерферонів і аналогів нуклеозидів. Тому у цих випадках застосування кількісних методів визначення РНК або ДНК недоцільне.

Суттєвими перевагами ПЛР, порівняно з іншими методами діагностики, є діагностична специфічність і чутливість, відсутність суворих вимог до збереження та транспортування зразків клінічного матеріалу. При стандартному методі ПЛР із застосуванням на останньому етапі електрофорезу існує ризик забруднення (контамінації) продуктами ПЛР клінічного матеріалу і реактивів. Це може призвести до хибнопозитивних результатів. Для зниження ризику контамінації і, відповідно, хибнопозитивних результатів ПЛР у клінічній практиці використовують сучасний метод молекулярно-біологічної діагностики — ПЛР у реальному часі. Він дає змогу кількісно визначати ДНК і РНК вірусів гепати-

ту. В цій реакції застосовують флуоресцентно-мічені олігонуклеотидні зонди, які гібридизуються зі специфічним продуктом ампліфікації. При цьому збільшується рівень флуоресцентного сигналу.

Накопичення специфічного продукту ампліфікації фіксують безпосередньо під час проведення ПЛР у реальному часі або по завершенні ПЛР («аналіз флуоресценції за кінцевою точкою»). Для цього використовують флуорометричний детектор, що дає змогу не проводити на останньому етапі ПЛР аналіз продуктів ампліфікації методом електрофорезу. Це значно зменшує ризик контамінації і, як наслідок, значно знижує кількість хибнопозитивних реакцій ПЛР.

ПЛР у реальному часі дає змогу кількісно оцінити вміст ДНК HBV або РНК HCV за рахунок обліку накопичення специфічного продукту ампліфікації [7]. Швидкість гібридизації флуоресцентно-мічених олігонуклеотидних зондів зі специфічним продуктом ампліфікації залежить від кількості копій дослідженого генетичного матеріалу, тобто ДНК HBV або РНК HCV у сироватці крові. У хворих з вірусним гепатитом В ПЛР у реальному часі дає змогу:

1. Провести кількісну оцінку вмісту ДНК HBV у сироватці крові і контролювати ефективність протівірусної терапії.
2. Удосконалити ранню діагностику ГВГ-В: цей метод виявляє ДНК HBV у сироватці крові у середньому на 3 тиж раніше, ніж методом ІФА визначається HBsAg.
3. Оцінити вірусну реплікацію у хворих з ГВГ-В з мінімальною активністю (наявність у сироватці крові HBsAg і анти-HBe). При цьому варіанті ХВГ-В концентрація ДНК HBV у сироватці крові повинна бути $< 10^5$ копій/мл ($2,0 \cdot 10^3$ МО/мл). Наявність вірусного навантаження $> 10^5$ копій/мл ($2,0 \cdot 10^3$ МО/мл) свідчить про перехід серологічного варіанта ХВГ-В з мінімальною активністю у варіант HBe-негативний ХВГ-В.
4. Визначити мутантні штами HBV.

За наявності у пацієнтів вірусного гепатиту С ПЛР у реальному часі дає можливість:

1. Кількісно визначити рівень РНК HCV у сироватці крові.
2. Значно прискорити виявлення інфікованості хворих HCV: на 2—3 міс раніше, ніж за допомогою серологічного дослідження (антитіла IgM до HCV і сумарні антитіла до HCV). Це особливо важливо у пацієнтів з наявністю чинників ризику інфікування HCV.
3. Оцінити ефективність протівірусної терапії.
4. Уточнити показання до протівірусної терапії, обрати оптимальні схеми лікування з ураху-

ванням вірусного навантаження у динаміці за результатами ПЛР у реальному часі.

Генотипування застосовують для прогнозування відповіді на лікування і визначення строків його проведення. Аналіз для визначення генотипу виконують тільки один раз, бо генотипи не змінюються. При генотипах 2 і 3 ефект протівірусної терапії (зменшення вірусного навантаження на два порядки і більше після 12-тижневого лікування) спостерігають приблизно у 88 % випадків, тоді як при генотипах 1, 4, 5 і 6 — у 48 %. 1-й генотип найбільш резистентний до протівірусної терапії. Для генотипування застосовують пряме визначення нуклеотидної послідовності, зворот-

ну гібридизацію з генотипоспецифічними олігонуклеотидними зондами, аналіз поліморфізму довжини рестрикційних фрагментів. У незначній кількості хворих виявляють кілька генотипів вірусу у сироватці крові. Доцільно враховувати результат щодо домінуючого вірусу.

Специфічна діагностика вірусних уражень печінки є важливим етапом перед встановленням стадії фіброзу печінки та аналізом отриманих даних для вирішення доцільності проведення протівірусної терапії. Від своєчасного обстеження і правильного трактування результатів серологічних і молекулярно-біологічних методів залежить ефективність призначеного лікування.

Список літератури

1. Андрейчин М.А., Чоп'як В.В. Клінічна імунологія та алергологія.— Тернопіль: Укрмедкнига, 2004.— 370 с.
2. Валенкевич Л.Н., Яхонтова О.И. Болезни органов пищеварения.— СПб: Деан, 2006.— 654 с.
3. Малый В.П. HCV-инфекция (острая и хроническая).— К., 2005.— 292 с.
4. Назаренко Г.И., Кищук А.А. Клиническая оценка результатов лабораторных исследований.— М.: Медицина, 2006.— 544 с.
5. Стерн С., Сайфу А., Олткорн Д. От симптома к диагнозу: Руководство для врачей: Пер. с англ.— М.: Гэотар-Медиа, 2008.— 816 с.
6. Шкурба А.В., Голубовская О.А. Актуальные вопросы лабораторной диагностики гепатита С // Лабор. диагностика.— 2007.— № 10.— С. 10—22.
7. Sanders-Saune K., Abravanel F., Nicot F. et al. Detection and quantification of HCV RNA using real-time PCR after automated sample processing // J. Med. Virol.— 2007.— Vol. 79.— P. 1821—1826.
8. Shiffman M.L., Diago M.D. et al. Хронический гепатит С, протекающий без повышения уровня аланиновой трансаминазы в сыворотке крови // Clin. Gastroenterol. Hepatol. (укр. изд.).— 2008.— Т. 1, № 1.— С. 54—60.

И.В. Евстигнеев

Серологические и молекулярно-биологические методы диагностики вирусных гепатитов В и С

Приведены данные о современных серологических и молекулярно-биологических методах диагностики вирусных гепатитов В и С. Сделан вывод о том, что эффективная противовирусная терапия зависит от правильного использования этих методов.

I.V. Yevstigneev

The serological and molecular-biological methods of diagnosis of viral hepatitis B and C

The paper presents the data of modern serological and molecular-biological methods of diagnosis of viral hepatitis B and C. It has been concluded that the most effective antiviral treatment depends on the correct use of these methods.

Контактна інформація

Євстигнеев Ігор Володимирович, к. мед. н., асистент кафедри
49130, Дніпропетровськ, Донецьке шосе, 115, кв. 6
Тел. (56) 721-55-45. E-mail: Yevstigneevi@gmail.com

Стаття надійшла до редакції 21 грудня 2009 р.