

**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ  
РЕСПУБЛИКИ УЗБЕКИСТАН  
САМАРКАНДСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ  
МЕДИЦИНСКИЙ ИНСТИТУТ**

# **ЛАБОРАТОРНО-ИНСТРУМЕНТАЛЬНАЯ ДИАГНОСТИКА ХРОНИЧЕСКОГО ВИРУСНОГО ГЕПАТИТА С И ВИЧ ИНФЕКЦИИ**



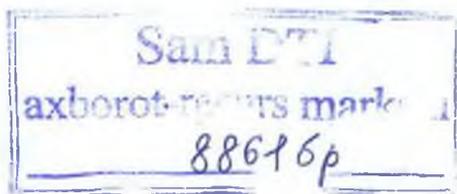
**Учебно-методическая пособие к практическим занятиям  
по специальности «ИНФЕКЦИОННЫЕ БОЛЕЗНИ» для студентов  
6 курса педиатрического и лечебного факультета медицинских ВУЗов**

**Самарканд - 2017**

**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ  
УЗБЕКИСТАН  
САМАРКАНДСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ  
ИНСТИТУТ**

**ЛАБОРАТОРНО-ИНСТРУМЕНТАЛЬНАЯ ДИАГНОСТИКА  
ХРОНИЧЕСКОГО ВИРУСНОГО ГЕПАТИТА С И ВИЧ ИНФЕКЦИИ**

**Учебно-методическая пособие к практическим занятиям по  
специальности «ИНФЕКЦИОННЫЕ БОЛЕЗНИ» для студентов 6 курса  
педиатрического и лечебного факультета медицинских ВУЗов**



Самарканд - 2017



## Оглавление

1. Наименование темы:.....	5
2. Актуальность темы:.....	5
3. Место проведения занятия:.....	5
4. Материальное оснащение занятия:.....	5
5. Основные цели и задачи занятия:.....	5
6. Основные учебные вопросы темы:.....	6
7. План и организационная структура практического занятия.....	7
8. Принципы лабораторной диагностики хронического гепатита С и ВИЧинфекции.....	8
9. Лабораторная диагностика хронического вирусного гепатита С.....	12
10. Лабораторная диагностика ВИЧ инфекции.....	24
11. Тестовые вопросы.....	27
12. Ответы к тестовым вопросам.....	29
13. Ситуационные задачи.....	31
14. ответы к ситуационным задачам.....	33
15. Рисунки.....	34
16. Литература.....	40

## ВВЕДЕНИЕ

Глобальная трансформация возбудителей инфекционных болезней на сегодняшний день привела к явному доминированию патологии, вызванной вирусами, прионами и грибами, в связи с чем XXI в. объявлен ВОЗ «эрой вирусных, грибковых и прионовых заболеваний». Заболевания, вызванные этими возбудителями, объединены склонностью к прогрессивному длительному течению («медленные инфекции»), трудностями терапии и диагностики.

Вирусные поражения печени в настоящий момент угрожают безопасности населения земного шара. Известно, по меньшей мере, восемь вирусов, способных поражать печень: А, В, С, D, E, G, TTV, SEN-вирус. В патологии печени важнейшую роль играют вирусные гепатиты С, В и D. Наибольшим хронизирующим потенциалом обладает вирусный гепатит С (ВГС): в 85% случаев инфицирование заканчивается развитием хронического процесса. По данным эпидемиологов, частота ВГС в Узбекистане, как минимум, в 5 раз превышает таковую ВИЧ-инфекции.

Беспрецедентному распространению этой патологии в нашей стране способствуют три фактора:

- высокая контагиозность заболевания: ВГС обладает в 10 раз большей способностью к заражению, чем ВИЧ;
- низкая информированность населения о данной патологии. Широкое распространение, высокая частота осложнений в виде развития гепатоцеллюлярной карциномы, цирроза и рака печени определяют актуальность проблемы вирусных поражений печени и необходимость их своевременной диагностики.

Учитывая вышеизложенное можно считать наше методическое учебное пособие своевременной, информативной, основанной на объективных данных учебным материалом. Надеемся, что предложенное учебное пособие будет полезно как для резидентов магистратуры, клинических ординаторов, так и для врачей инфекционистов и паразитологов.

### **1. Наименование темы:**

Лабораторная и инструментальная диагностика хронического вирусного гепатита С и ВИЧ инфекции.

### **2. Актуальность темы:**

Вирусные поражения печени в настоящий момент угрожают безопасности населения земного шара. Известно, по меньшей мере, восемь вирусов, способных поражать печень: А, В, С, D, E, G, TTV, SEN-вирус. В патологии печени важнейшую роль играют вирусные гепатиты С, В и D. Наибольшим хронизирующим потенциалом обладает вирусный гепатит С (ВГС): в 85% случаев инфицирование заканчивается развитием хронического процесса. По данным эпидемиологов, частота ВГС в Узбекистане, как минимум, в 5 раз превышает таковую ВИЧ-инфекции.

Вышесказанное определяет необходимость ознакомления студентов с интерпретацией лабораторной диагностики хронического вирусного гепатита С и ВИЧ инфекции.

### **3. Место проведения занятия:**

учебная комната.

### **4. Материальное оснащение занятия:**

Таблицы, учебные задания, приказы, лабораторная укладка для забора материала от больного.

### **5. Основные цели и задачи занятия:**

Изучение особенностей интерпретации диагностики хронического вирусного гепатита С и ВИЧ инфекции в Республики Узбекистан в соответствии с действующими приказами, санитарными правилами и нормативами.

В результате проведения занятия:

**5.1. Студент должен знать:** -особенности диагностики хронического вирусного гепатита С и ВИЧ инфекции.

- особенности лабораторной диагностики хронического вирусного гепатита С и ВИЧ инфекции.

- особенности инструментальной диагностики хронического вирусного гепатита С и ВИЧ инфекции.

- особенности современной диагностики хронического вирусного гепатита С и ВИЧ инфекции.

- 5.2. Студент должен уметь: - взять и доставить материал в лабораторию при подозрении на хронический вирусный гепатит С и ВИЧ инфекцию;
- Интерпретировать лабораторные данные

### 5.35.3. Воспитательные цели:

В процессе занятия проводится воспитание принципиальности и добросовестности, ответственности, а также самостоятельности и в то же время умения действовать в постоянной взаимосвязи с коллегами при проведении профилактических и противоэпидемических мероприятий.

### 6. Основные учебные вопросы темы:

- 6.1. -особенности диагностики хронического вирусного гепатита Си ВИЧ инфекции.
- 6.2. - особенности лабораторной диагностики и ВИЧхронического вирусного гепатита С инфекции.
- 6.3. - особенности инструментальной диагностики хронического вирусного гепатита Си ВИЧ инфекции.
- 6.4. - особенности современной диагностики хронического вирусного гепатита Си ВИЧ инфекции.

7. План и организационная структура практического занятия  
(Хронологическая карта проведения практического занятия).

п/п	Содержание	Форма обучения	Оснащение	Время
1.	Вводное слово преподавателя			5 мин.
2.	Проверка исходного уровня знаний	Опрос по контрольным вопросам	Учебные задания, электронное обучение-модуль	20 мин.
3.	Разбор большого хроническим вирусным гепатитом Си ВИЧ инфекции.	Самостоятельная работа студентов с разьяснением преподавателя	Учебные задания, электронное обучение-модуль	35 мин.
4.	Особенности лабораторной диагностики хронического вирусного гепатита Си ВИЧ инфекции.	Самостоятельная работа студентов с разьяснением преподавателя	Учебные задания, электронное обучение-модуль	30 мин.
5.	Ознакомление студентов с лабораторией.	Самостоятельная работа студентов с разьяснением преподавателя	Учебные задания, электронное обучение-модуль	15 мин.
6.	Освоение правил выполнения практических навыков.	Самостоятельная работа студентов с разьяснением преподавателя	Учебные задания, электронное обучение-	30 мин.

			модуль	
7.	Решение ситуационных задач, тестов и практических навыков.	Самостоятельная работа студентов с разъяснением преподавателя	Учебные задания, электронное обучение-модуль	10 мин.
8.	Заключение по теме, задание на дом. Задание учебно-целевых вопросов к следующему занятию.	Заключение преподавателя	Учебные задания, электронное обучение-модуль	5 мин.

ИТОГО:180 мин.

### Диагностика хронического вирусного гепатита С и ВИЧ инфекции

Актуальность. На сегодняшний день существуют высоко эффективный метод лечения хронического вирусного гепатита (ХВГС), однако успех терапии зависит от многих факторов, важнейшим из которых является своевременное выявление заболевания, четкое определение показаний и противопоказаний к проведению противовирусной терапии (ПВТ).

В связи со скудностью клинической симптоматики хронических поражений печени большое значение в их диагностике имеют лабораторные и инструментальные исследования. Лабораторная диагностика вирусных поражений печени достаточно объемна, сложна и должна проводиться по этапам - от простых методик, имеющихся в распоряжении практически любого лечебного учреждения, до более углубленных исследований поражений печени, доступных только крупным медицинским центрам.

#### *Принципы лабораторной диагностики ХВГС и ВИЧ инфекции*

#### *Этапы лабораторной диагностики ХВГ*

##### *I. Первичная неспецифическая диагностика вирусных поражений печени:*

- 1. Общеклинические исследования.*
- 2. Биохимические исследования.*
- 3. УЗИ (2D-эхография).*

##### *II. Специфическая диагностика вирусных поражений печени:*

1. Серологические исследования.

2. Молекулярно-биологические исследования:

а) качественные;

б) количественные;

в) генотипирование.

### **III. Установление стадии фиброза печени:**

1. Морфологические методы.

2. УЗИ (3D+PD-режимы).

3. Определение показателей внеклеточного соединительнотканного матрикса.

4. Метод кратковременной эластографии.

### **IV. Анализ полученных результатов для решения вопроса о возможности проведения ПВТ.**

#### **Первичная неспецифическая диагностика вирусных поражений печени**

Этот этап может проводиться в районных поликлиниках или по месту регистрации больных и сводится к исследованию общего анализа крови (гемограмма) и основных биохимических параметров. Цель данного этапа - выявление поражений печени без установления непосредственной причины. У больных с вирусными поражениями печени изменения в гемограмме чаще отсутствуют, однако у части пациентов могут наблюдаться следующие нарушения:

- а) снижение количества лейкоцитов, нейтрофилов, тромбоцитов и гемоглобина вследствие непосредственного воздействия вируса на соответствующие костномозговые ростки либо наличия аутоантител (например: антитромбоцитарных). Снижение абсолютного количества лейкоцитов до  $1,5 \times 10^9/\text{л}$ , нейтрофилов до  $0,75 \times 10^9/\text{л}$ , тромбоцитов до  $50 \times 10^{12}/\text{л}$ , гемоглобина до 100 г/л является абсолютным противопоказанием к назначению ПВТ;
- б) повышение уровней эритроцитов и гемоглобина может быть проявлением гемохроматоза. Ген гемохроматоза, по данным разных

авторов, встречается у 5-20% больных ХВСГ. При выявлении таких изменений рекомендуется исследовать уровень сывороточного железа, трансферрина и ферритина крови. Проведение ПВТ возможно, если нет других противопоказаний.

*Биохимические методы исследования* на первом этапе диагностики сводятся к выявлению изменений печеночных проб: билирубина и его фракций, аланинаминотрансферазы (АлАТ), аспартатаминотрансферазы (АсАТ), гамма-глутамилтранспептидазы (ГГТП), щелочной фосфатазы (ЩФ), альбуминов, тимоловой пробы (ТП).

При хронических вирусных поражениях печени могут наблюдаться следующие изменения:

а) *повышение уровня общего билирубина за счет прямой фракции* при нарушении выведения прямого билирубина вследствие цитолиза гепатоцитов. Эти изменения наблюдаются чаще всего при фиброзе F3-F4 (METAVIR), нарастание общего билирубина в крови свидетельствует об обострении процесса;

б) *повышение уровня общего билирубина за счет непрямой фракции* у больных ХВСГ является чаще признаком синдрома Жильбера-наследственного дефицита глюкоронилтрансферазы в печени, вследствие чего затруднено образование прямого билирубина. Болеют мужчины. Уровень общего билирубина при данной патологии редко превышает 100 мкмоль/л и чаще проявляется при различных интеркуррентных заболеваниях;

в) *повышение активности АлАТ*. Этот фермент катализирует перенос аминогруппы с аланина (аминокислота) на  $\alpha$ -кетоглутаровую кислоту. В самых больших концентрациях содержится в печени, хотя в незначительных количествах присутствует в поджелудочной железе, селезенке, легких. Это более чувствительный и точный тест ранней диагностики острого гепатита. АлАТ содержится в цитоплазме гепатоцита, поэтому ее повышение коррелирует со степенью цитолиза последнего;

г) *повышение активности АсАТ*. Этот фермент катализирует перенос аминогруппы с аспарагиновой кислоты (аминокислота) на  $\alpha$ -кетоглутаровую кислоту (кетокислота). АсАТ широко распространена в тканях человека (сердце, печень, скелетные мышцы, почки, поджелудочная железа, легкие и др.) и имеет митохондриальные и цитоплазматический изоферменты. В норме в сыворотке крови содержится небольшое количество только цитоплазматического изофермента. Значительное повышение АсАТ свидетельствует о некрозе гепатоцита, сопровождающемся распадом клеточных органелл;

д) *повышение активности ГГТП*. Этот фермент обнаруживается в печени, поджелудочной железе, почках. Он более чувствителен к нарушениям в тканях печени, чем АлАТ, АсАТ, щелочная фосфатаза и др. Особенно чувствительна печень к длительному злоупотреблению алкоголем. По крайней мере, пять процессов в печени повышают ее активность: цитолиз, холестаза, интоксикация алкоголем, опухолевый рост, лекарственные

поражения. При ХВГ стойкое повышение ГТТП свидетельствует либо о тяжелом процессе в печени (цирроз), либо о токсическом воздействии; е) **повышение активности ЩФ**. Этот фермент находится в эпителии желчных протоков, поэтому повышение его активности свидетельствует о холестазах любого генеза (внутри- и внепеченочных). Изолированное возрастание уровня ЩФ является неблагоприятным прогностическим признаком и может свидетельствовать о развитии гепатоцеллюлярной карциномы;

ж) **снижение количества альбуминов** свидетельствует о тяжелом поражении печени со снижением ее белкосинтетической функции, что происходит уже в стадии цирроза печени;

з) **повышение значения ТП** свидетельствует о диспротеинемии, характерной для хронических поражений печени, и степени выраженности мезенхимально-воспалительных изменений в органе.

Следующим важным этапом первичной диагностики диффузных изменений печени является ультразвуковое сканирование. При ультразвуковой диагностике хронических поражений печени в режиме двухмерной визуализации (привычная так называемая серая шкала, или 2D-эхография) выявляются следующие изменения: увеличение переднезадних размеров правой и (в большей степени) левой долей печени, повышение акустической плотности паренхимы и утолщение капсулы органа (норма - до 3 мм), расширение воротной вены (норма - до 1,3 см). При циррозе печени изменяется ее контур, появляется бугристость, в паренхиме выявляется неоднородность за счет чередования участков с различной эхогенностью (узлы). Также в той или иной степени отмечается увеличение селезенки (норма площади - до 75 см<sup>2</sup>), повышение ее акустической плотности, расширение селезеночной вены и при прогрессировании признаков портальной гипертензии - появление анастомозов в области ворот селезенки.

#### **Специфическая диагностика вирусных поражений печени**

Этот этап лабораторных исследований начинают с обнаружения антител к различным вирусным белкам, т. е. с проведения *серологических методов*. Определение антител в настоящее время осуществляется с помощью иммуноферментного анализа (ИФА) с использованием диагностикумов ELISA III поколения, иммунолюминисцентного анализа (высокочувствителен, но не доступен для широкого использования) и иммунохроматографического анализа (ИХА).

Последний является методом экспресс-диагностики. И если по чувствительности он несколько уступает ИФА, то для скринингового исследования крови ИХА незаменим, т. к. имеет ряд преимуществ: простота исследования, дешевизна, не требует специального оборудования и т. д. Серологические особенности хронического вирусного гепатита С (ХВГС).

## Лабораторная диагностика хронического вирусного гепатита С

При этом заболевании определяют общие антитела - анти-HCV. В острый период заболевания выявляют иммуноглобулины класса М (IgM), при перенесенной инфекции или формировании хронического гепатита - класса G (IgG). Особенностью HCV-инфекции является поздняя выработка антител - не ранее 8 нед от момента инфицирования. Следовательно, не всегда отсутствие антител исключает наличие инфекционного процесса. Современные тест-системы позволяют определять антитела к структурным и неструктурным белкам генома. К структурным относят нуклеокапсидный белок сердцевинки (coreprotein) и два белка внешней оболочки (E1 и E2/NS1-envelope protein), к неструктурным (NS-nonstructural) - NS2, NS3, NS4a, NS4b, NS5a, NS5b. К каждому из перечисленных белков вырабатываются антитела, имеющие разное диагностическое значение, однако в большинстве клинко-диагностических лабораторий Украины определение всего спектра антител невозможно. Наиболее часто определяемые в повседневной практике антитела к белкам NS3, NS4 и NS5 являются маркерами инфицирования, но они не позволяют судить об остроте процесса. Анти-HCVIgM нецелесообразно выявлять в повседневной практике, поскольку они присутствуют как при острой, так и при обострении хронической инфекции и не коррелируют с клиническими и вирусологическими изменениями. Анти-HCVIgG обязательно определяют при скрининге доноров крови для подтверждения сероконверсии и мониторинга при лечении интерферонами. После проведенного эффективного противовирусного лечения в крови длительное время, чаще пожизненно, сохраняются IgG. Иногда после 10-15 лет после элиминации вирусной РНК из крови они могут исчезать. К факторам, тормозящим выработку антител либо приводящим к снижению их концентрации в крови, относят первичные и вторичные иммунодефициты, хронический гемодиализ. В таких случаях основой специфической диагностики должно быть определение РНК вируса в крови.

### *Антитела к гепатиту С (anti HCV), «положительный HCV»*



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 вирусом гепатита С. Для гепатита С все антитела содержат аббревиатуру anti-HCV, что означает «против вируса гепатита С». Антитела гепатита С бывают двух классов — G и M, что в анализах пишется, как IgG и IgM (Ig-immunoglobulin (иммуноглобулин) — 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. 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. У таких людей данный маркер может обнаруживаться в течение 4 - 8 и более лет после выздоровления. 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 (прежде всего за счет anti-HCV core Ig, о них написано ниже), при этом их титры постепенно снижаются.

*«Важно знать, что антитела к гепатиту С не защищают от развития HCV-инфекции и не обеспечивают надежного иммунитета против повторного инфицирования.»*

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). Anti-HCV core Ig — 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 титр антител класса IgG постепенно снижается и может достигнуть неопределяемых величин через несколько лет после выздоровления.

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. Считается, что обнаружение anti-HCV IgM может отражать уровень виремии и активность гепатита С, однако не всегда при реактивации ХВГС anti-HCV IgM выявляются. Также есть случаи, когда при хроническом гепатите С в отсутствие реактивации обнаруживаются anti-HCV IgM.

В большинстве случаев, наличие anti-HCV IgM указывает на текущую инфекцию. При хроническом гепатите С антитела класса М могут свидетельствовать об обострении процесса. При проведении терапии интерфероном наблюдение за anti-HCV IgM в динамике позволяет оценивать эффективность лечения.

Неструктурные (NS3, NS4, NS5) 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 антитела к белкам NS3, NS4 и NS5.

Anti-NS3 выявляются на самых ранних этапах сероконверсии. Высокие титры anti-NS3 характерны при остром гепатите С и могут являться самостоятельным диагностическим маркером острого процесса. 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. При ХВГС определение anti-NS4 в высоких титрах может свидетельствовать о длительности инфекционного процесса и, по некоторым данным, имеет связь со степенью поражения печени. Выявление anti-NS5 в высоких титрах часто свидетельствует о присутствии вирусной РНК, а в острой стадии является предиктором хронизации инфекционного процесса. Снижение титров NS4 и NS5 в динамике может являться благоприятным признаком, указывающим на формирование клинико-биохимической ремиссии. Титры anti-NS5 могут отражать эффективность ПВТ, причем их повышенные значения характерны для лиц, не отвечающих на терапию. После выздоровления титры anti-NS4 и anti-NS5 снижаются с течением времени. Результаты одного из исследований показали, что почти у половины пациентов через 10 лет после успешного лечения интерферонами, anti-NS4 и anti-NS5 не определялись. В следующей таблице приведены наиболее вероятные варианты трактовки сочетания маркеров гепатита С.

### Варианты трактовки сочетания маркеров гепатита С

anti-HCV IgM	anti-HCV coreIgG	anti-HCV NS IgG	RN A HCV	Примечание	Трактовка результата
+	+	-	+	Наличие клинико-лабораторных признаков острого гепатита, нарастанием титров anti-HCV coreIgG	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 coreIgG 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

Однако, для постановки диагноза, не всегда достаточно иметь результаты серологических исследований. Необходимо наличие эпидемиологических данных, сведений о времени и обстоятельствах возможного заражения, наличие клинико-лабораторных признаков заболевания.

*Молекулярно-биологические методы исследования* являются следующей ступенью в диагностике хронических вирусных заболеваний печени. Для их проведения требуются дорогостоящее оборудование и высококвалифицированный персонал, поэтому они недоступны для массового обследования пациентов в регионах.

Данные методы направлены на обнаружение генетического материала вирусов (РНК) методом полимеразной цепной реакции (ПЦР).

Так как вирус при ХВСГ поддается количественной оценке и от ее уровня зависит тактика ведения больных, многие врачи предпочитают в первую очередь определять количество вируса в крови.

Однако следует помнить, что *качественные методы* более чувствительны и предпочтительны для первичного обследования больных. Кроме того, они гораздо дешевле. Отрицательный результат качественного определения вирусной РНК при наличии в крови антител, вероятнее всего, свидетельствует о перенесенной инфекции и формировании стойкого иммунитета. Но возможны и другие причины - ложноположительный результат на антитела, ложноотрицательный результат определения генома вируса, преходящая или стабильно низкая вирусемия.

Качественные методы выявления РНК или ДНК вируса основаны на амплификации нуклеиновых кислот, например ПЦР или транскрипционная амплификация (ТАМ).

Для выяснения причины ложноположительного теста на антитела к ВГС при наличии вирусной РНК используют метод **иммуноблоттинга**, или **вестерн-блоттинга** (от англ. immunoblotting и Westernblotting). Он предполагает определение антител к структурным и неструктурным белкам вируса. Отрицательный результат иммуноблоттинга свидетельствует о том, что тест на антитела дал ложноположительный результат и что дальнейшее обследование излишне; положительный результат этого метода при двух и более отрицательных качественных исследованиях вирусной РНК лицензионными тест-системами указывает на выздоровление пациента и на то, что дальнейшее обследование проводить не нужно.

Для **количественного определения** вирусной РНК или ДНК используют два метода: основанные на амплификации нуклеиновых кислот (ПЦР или ТАМ) либо амплификации сигнала (метод разветвленной ДНК). Следует отметить, что рабочие диапазоны различных тест-систем для количественного определения нуклеиновых кислот вируса заметно отличаются. В настоящее время для оценки количества вируса в крови используют **стандартизированные единицы** - МЕ/мл. Использовать же для контроля методы определения вирусной нагрузки в копиях/мл в настоящее время совершенно нецелесообразно, так как они абсолютно несопоставимы в нескольких результатах, даже взятых у одного и того же больного в одно и то же время.

При гепатите С вирусную нагрузку считают высокой в том случае, если количество вируса превышает 800 000 МЕ/мл. Конечно же, методы количественного определения вирусной нагрузки весьма дорогостоящи и доступны далеко не всем лабораториям. Назначать количественное определение вируса целесообразно только тем больным, у которых планируется проведение специфической ПВТ препаратами интерферона самостоятельно или в комбинации с аналогами нуклеозидов. Только такая

терапия приводит к достоверному и стойкому снижению количества вируса в крови, а по динамике уменьшения вирусной нагрузки можно предопределить как продолжительность терапии, так и ее целесообразность в целом. Если же больным не планируется проведение ПВТ вышеуказанными препаратами, то и определение вирусной нагрузки в ходе альтернативного лечения (индукторы интерферона, гепатопротекторы с противовирусной активностью, препараты метаболической терапии и др.) нецелесообразно, поскольку незначительные колебания концентрации вируса в процессе терапии в пределах одного порядка не могут служить критерием ее эффективности. **Определение генотипа** вируса является чрезвычайно важным моментом в диагностике и определении тактики дальнейшего ведения больных, особенно при ВГС. Этот вирус в настоящее время имеет около 12 генотипов и более 90 субтипов. Генотип позволяет предсказать эффективность терапии и определить ее длительность. Известно, что 1 генотип наиболее толерантен к самым современным методам лечения: при применении комбинированной терапии пегилированными интерферонами и рибавирином устойчивого вирусологического ответа (отрицательный результат вирусной нагрузки в течение 6 мес после прекращения лечения) удастся достичь не более чем у 40-60% больных.

Для генотипирования используют прямое определение нуклеотидной последовательности, обратную гибридизацию с генотипспецифическими олигонуклеотидными зондами либо анализ полиморфизма длины рестриционных фрагментов. У небольшой части пациентов (менее 3% зараженных ВГС) определить генотип не удастся, примерно у такого же количества (около 4%) больных устанавливают сразу несколько генотипов вируса в крови. В последнем случае целесообразно выдавать результат доминирующего вируса.

Количественное исследование ДНК при гепатите В необходимо как для установления типа серологического варианта течения, так и для оценки целесообразности проведения ПВТ (если определяемый уровень ДНК менее  $10^5$  копий/мл - лечение не показано).

Генотипирование ВГВ в повседневной практике имеет меньшее клиническое значение, чем определение генотипов ВГС.

### **Определение стадии фиброза печени**

Установление стадии фиброза является необходимым моментом в диагностике вирусных поражений печени как для определения времени начала ПВТ (наличие мостовидного фиброза - показание к назначению ПВТ), так и для контроля ее эффективности. Стандартом определения фиброза печени является пункционная биопсия органа.

В Узбекистане для оценки активности процесса обычно используют индекс гистологической активности (ИГА), предложенный R.G. Knodell и соавт. в

1981 г. и усовершенствованный в 1994 г. V.J. Desmet с соавт. Активность процесса оценивается фибротическим состоянием портальных трактов, перипортальных зон, долек, степенью образования портосептальных септ и ложных долек, нарушения строения печени.

*Различают четыре стадии фиброза:*

*I стадия - слабый фиброз - 1-4 балла;*

*II стадия - умеренный фиброз - 5-8 баллов;*

*III стадия - тяжелый фиброз - 9-12 баллов;*

*IV стадия - цирроз - 13-16 баллов.*

Оригинальную систему оценки фиброза печени предложил К. Ishak с соавт. (1995 г.). Р. Bedossa и Т. Poynard в ходе комплексного исследования METAVIR (1996 г.) разработали систему оценки стадии хронического ВГС (см. таблицу). Именно эти системы вошли в международные рекомендации по ведению больных с ВГС.

Оценка стадий фиброза печени у больных ВГС  
(по К. Ishak, Р. Bedossa и Т. Poynard)

*«Золотым стандартом» определения стадии фиброза печени, несмотря на ряд недостатков, является пункционная биопсия. Во-первых, она является инвазивной методикой, вызывающей ряд осложнений, вплоть до летальных исходов.*

Во-вторых, существует возможность так называемой «ошибки попадания», когда пункционная игла берет участок с менее либо, наоборот, более выраженными изменениями. В исследованиях А. Regev (2002) представлены сравнительные результаты пункционной биопсии правой и левой долей печени у одного и того же пациента (124 исследуемых). У 33% больных имелись расхождения, по меньшей мере, на одну стадию фиброза между правой и левой долями печени, у 14,5% пациентов в одной доле печени устанавливали цирроз печени (фиброз IV степени), тогда как в другой - фиброз III степени. У 2,4% исследуемых отмечены расхождения на две стадии фиброза между разными долями печени. В-третьих, в многочисленных исследованиях установлено, что информативен только пунктат длиной не менее 1 см, содержащий не менее семи портальных трактов. Этого, к сожалению, далеко не всегда удается достичь при пункционной биопсии печени, т. к. образец часто получается меньше, и это существенно влияет на качество проведенного исследования. Кроме того, различные морфологи по-разному оценивают результаты биоптатов, что может произойти и при повторной оценке препарата одним и тем же морфологом. Несмотря на то что гепатит

определяется как диффузное и однородное поражение печени, накапливается все больше данных о морфологических различиях биоптатов печени, полученных одновременно от одного и того же больного.

В-четвертых, у ряда пациентов биопсию печени выполнить невозможно, так как имеются определенные противопоказания (гемофилия, гемангиома печени, тромбоцитопения, асцит, правосторонний плеврит и др.).

Также существенной проблемой является необходимость выполнения нескольких биопсий в течение жизни одному пациенту, что на фоне традиционно негативного отношения больных к данной процедуре в нашей стране является фактором, снижающим качество их жизни. Таким образом, пункционная биопсия не должна быть единственным критерием оценки степени фиброза печени как до лечения, так и после, что обуславливает необходимость разработки и внедрения неинвазивных методов оценки данного патологического состояния.

Так, большей информативностью обладают некоторые биохимические исследования крови, основанные на определении показателей соединительнотканного внеклеточного матрикса, в частности биохимия крови, данные выявления молекулярных соединений, участвующих в патофизиологии фиброгенеза печени (гиалуроновая кислота, коллаген IV типа, аполиппротеин A1 и др.).

Определяя показатели внеклеточного соединительнотканного матрикса, можно установить характер и глубину поражения печени, то есть провести, по существу, пункционную биопсию без травмы - «биохимическую биопсию». К таким биохимическим показателям относят  $\alpha_2$ -макроглобулин, гаптоглобин, ГГТП,  $\gamma$ -глобулин, общий билирубин, аполиппротеин A1, а также некоторые показатели активности фиброгенеза: фактор некроза опухолей  $\alpha$ , трансформирующий фактор роста  $\alpha$ , ИЛ-1, ИЛ-6, простагландин E2, простациклин. Определяют также уровень гиалуроновой кислоты, коллагена III-IV, проколлагена III, металлопротеиназы внеклеточного матрикса (коллагеназу, стромелизин, желатиназу, мембраносвязанные металлопротеиназы), тканевые ингибиторы металлопротеиназ, показатели железоиндуцированной хемолюминесценции.

Результаты определения некоторых маркеров (гиалуроновой кислоты, коллагена IV типа) оказались неоднозначными. Так, концентрация гиалуроновой кислоты была существенно выше у больных с циррозом печени и значительно не различалась в группах больных с ХВГС и фиброзом F1, F3-4. В то же время, по среднему уровню концентрации коллагена IV типа между этими группами выявлены достоверные различия, которые также существенны между группой больных с фиброзом F3-4 и циррозом печени. Данный факт позволяет допустить, что определение уровня коллагена IV может применяться в клинической практике для разграничения различных стадий фиброза, однако информации о распространенности процесса этот метод не дает.

*Из инструментальных методов определения фиброза печени* на сегодняшний день широко применяется описанное выше стандартное УЗИ печени в режиме двухмерной визуализации (2D-режим, или серошкальная эхография) и трехмерной реконструкции ткани печени с использованием энергетического доплеровского режима (3D+PD-режим), позволяющее не только определить плотность печеночной паренхимы в различных ее участках, но и выявить процентное содержание сосудистых элементов в исследуемой области, а также измерить основные показатели кровотока в них. УЗИ становится все более актуальным методом кратковременной эластометрии (FibroScan, Echosens, France). *Метод стандартного УЗИ в серошкальном режиме* позволяет определить размеры печени, ее структуру, акустическую плотность, размеры основных сосудов гепатобилиарной зоны, однако интерпретация данных зависит от опыта врача и разрешающей способности аппарата. Существенным недостатком является также отсутствие возможности измерения кровотока как в основных сосудах гепатобилиарной зоны (воротная вена, печеночная артерия, селезеночная вена), так и в мелких сосудах печеночной паренхимы. Кроме того, проведенные некоторыми авторами исследования не выявили достоверных различий в УЗИ при оценке степени фиброза легкой и средней степени тяжести (F1-2).

*Измерение эластичности печени прибором FibroScan* является альтернативным неинвазивным методом определения фиброза печени с достаточно высокой достоверностью (особенно при F3-4). Основная рабочая часть этого аппарата представлена ультразвуковым датчиком, в который установлен источник колебаний средней амплитуды и низкой частоты. Генерируемые им колебания передаются на подлежащие ткани печени и создают упругие волны, подвергающие модуляции отраженный ультразвук. Скорость распространения упругих волн зависит от плотности печени. В среднем выполняется 10 измерений на глубине 25-65 мм от поверхности кожи, средний объем исследуемой печеночной ткани составляет 6 см<sup>3</sup>. Среднее значение характеризует эластичность печени, результат выражается в кПа. Основным недостатком этого метода является отсутствие возможности оценить степень васкуляризации паренхимы печени при ее диффузных поражениях и измерить показатели печеночного кровотока в мелких сосудах печени. Вместе с тем, при наличии сопутствующей патологии у больных с ХВГС (метаболический синдром, жировой гепатоз) данные показатели могут свидетельствовать о степени нарушения реологических свойств крови, что позволит оптимизировать терапию. Кроме того, исследование имеет ограничение по глубине проникновения колебаний (не более 50 мм под кожей), что также снижает его достоверность.

Сочетанное использование методов 3D и PD при обследовании больного позволяет дополнительно получить сведения, не доступные методу 2D-визуализации:

- *плотность ткани* по серой шкале (MG -MeanGrayValue);
- *индекс васкуляризации* (VI -VascularizationIndex), который отражает процентное содержание сосудистых элементов в интересующем объеме печеночной ткани;
- *индекс текучести* (FI -FlowIndex), который отражает количество клеток, транспортируемых в момент исследования, т. е. интенсивность кровотока;
- *индекс кровотока* (FVI -FlowVascularizationIndex), отражающий количество крови, проходящей через данный объем (мл/мин).

Этот метод также имеет определенные ограничения относительно применения, прежде всего, за счет дорогостоящего оборудования, дефицита специалистов, владеющих данной методикой. Также затруднена интерпретация данных у больных с асцитом, выраженными очаговыми поражениями печени (множественные гемангиомы).

Таким образом, все методы определения фиброза печени не являются строго достоверными, поэтому интерпретация полученных данных должна основываться на анализе результатов нескольких из них.

#### Анализ полученных результатов для решения вопроса о возможности проведения ПВТ

Это последний этап в диагностике поражений печени, и проведение его целесообразно только в том случае, если больному будет назначаться ПВТ. К исследованиям данного этапа относятся антинуклеарные антитела (ANA), тиреотропный гормон (ТТГ), антитела к тиреоглобулину, антитела к тиреопероксидазе, общая иммунограмма (обязательно с исследованием циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) и уровня криоглобулинов), скрининговое исследование на редкие гепатотропные вирусы (G, TTV, SEN), а также герпесвирусы.

1. ANA - это гетерогенная группа аутоантител, реагирующих с различными компонентами ядра. При ХВГ может быть повышение титра этих антител (не более 1:320), что не является противопоказанием к проведению ПВТ, однако значительно снижает ее эффективность. При более высоких титрах ANA необходимо проведение дифференциальной диагностики с аутоиммунными заболеваниями соединительной ткани (системная красная волчанка, дерматомиозит и др.).
2. **Исследование функции щитовидной железы.** Аутоиммунный тиреоидит является одним из внепеченочных проявлений вирусных гепатитов (особенно ВГС), поэтому его своевременное выявление и определение степени поражения (если таковое имеется) чрезвычайно важно по нескольким причинам:
  - во-первых, наличие тяжелого аутоиммунного тиреоидита ставит под сомнение саму возможность проведения ПВТ;
  - во-вторых, ПВТ может провоцировать возникновение либо

прогрессирование уже имеющегося поражения щитовидной железы, что может негативно сказываться на ее эффективности.

Начинают исследование с определения уровня ТТГ (норма у взрослых - 0,2-3,2 мМЕ/л). Данный гормон является гликопротеином, выделяемым аденогипофизом. ТТГ действует на щитовидную железу, стимулируя синтез тироксина ( $T_4$ ) и трийодтиронина ( $T_3$ ). Даже при субклиническом течении поражений щитовидной железы, когда уровень ее гормонов находится в норме, содержание ТТГ изменяется (при гипотиреозе - повышается, при гипертиреозе - снижается). Если пальпаторно либо при УЗИ не выявлено изменений щитовидной железы, то достаточно определить уровень этого гормона в процессе подготовки к проведению ПВТ. Назначение других исследований (самих гормонов  $T_3$ ,  $T_4$  и др., аутоантител к тиреоглобулину, тиреопероксидазе), часто необоснованно практикуемых, в данном случае излишне.

В случае подозрения на патологию щитовидной железы (например неоднородность ее паренхимы при УЗИ) дополнительно назначают исследование на определение *антител к тиреопероксидазе, тиреоглобулину, уровня общего  $T_3$ , свободного тироксина ( $cT_4$ ), общего тироксина ( $T_4$ )*.

*Тиреопероксидаза* - фермент, связанный с эпителиальными клетками фолликулов щитовидной железы, который осуществляет окисление йодидов до активного йода и йодирование тирозина (норма в сыворотке - 0-18 МЕ/мл). Определение уровня аутоантител к тиреопероксидазе используется как маркер заболеваний щитовидной железы, вызванных аутоиммунными процессами.

*Антитела к тиреоглобулину* - это антитела к предшественнику гормонов щитовидной железы, они связывают тиреоглобулин, нарушая синтез гормонов железы и вызывая тем самым гипотиреоз (норма - 0-51 МЕ/мл). Определение содержания гормонов щитовидной железы также назначается в комплексном исследовании, но трактовка результатов и установление точного диагноза с рекомендациями по лечению и возможности проведения специфической ПВТ должны проводиться исключительно врачом-эндокринологом.

**Исследование иммунограммы с определением ЦИК и уровня криоглобулинов** необходимо для определения степени выраженности иммунной недостаточности, неизменно возникающей при ВГС. Недостаточность Т-клеточного звена иммунитета, повышенное содержание ЦИК являются показанием к проведению сеансов плазмафереза с иммуномодуляцией (выбор препарата зависит от изменений в иммунограмме) в качестве подготовки к ПВТ с целью повышения ее эффективности.

*Криоглобулины* - иммуноглобулины или их легкие цепи, преципитирующие при температуре ниже 37 °С и, как правило, растворяющиеся при нагревании. При вирусных гепатитах (особенно С)

смешанная криоглобулинемия выявляется приблизительно у трети больных и обуславливает ряд внепеченочных проявлений: мембранопротрофирующий гломерулонефрит, васкулит, поражения щитовидной железы и т. д.

**Криоглобулинемический васкулит** (полный криоглобулинемический синдром) - васкулит, развивающийся в результате отложения в сосудах малого диаметра криоглобулинов и характеризующийся их наличием в сыворотке крови.

**Криоглобулинемия** (неполный криоглобулинемический синдром) - состояние, характеризующееся наличием криоглобулинов в сыворотке крови. Термин «неполный криоглобулинемический синдром» может также употребляться при яркой клинической картине криоглобулинемического васкулита в отсутствие криоглобулинемии. И наоборот, криоглобулинемия не всегда приводит к криоглобулинемическому васкулиту.

В зависимости от вида криоглобулинов выделяют три типа криоглобулинемии - I, II, III. Криоглобулинемию II или III типа часто называют смешанной из-за наличия нескольких видов иммуноглобулинов: моноклональных IgM, реже IgG, IgA, и поликлональных IgG (II тип) либо поликлональных иммуноглобулинов всех видов (III тип). Ревматоидный фактор (РФ) обнаруживается как моно- или поликлональный компонент в составе криоглобулинемии II или III типа. Таким образом, в случае, если нет возможности определить уровень криоглобулинов (это исследование доступно не всем лабораториям), выявление РФ может свидетельствовать о криоглобулинемическом синдроме у больных с ХВГ.

### 3. Альфа-фетопротейн (АФП)

Онкомаркер, вырабатываемый желточным мешком эмбриона (норма у взрослых - до 10 МЕ/мл). Повышение уровня АФП при гепатоцеллюлярной карциноме у 50% больных выявляется на 1-3 мес. раньше, чем появляются клинические симптомы заболевания. Назначать это исследование необходимо всем больным с признаками цирроза печени, однако следует помнить, что уровень АФП в крови не коррелирует с опухолью массой менее 2 кг.

### 3. Определение уровня железа в сыворотке

Норма: мужчины - 8,95-28,64 ммоль/л; женщины - 7,16-26,85 ммоль/л. При диффузных поражениях печени может наблюдаться повышение уровня железа вследствие избыточного его накопления при выраженном фиброзе, циррозе печени либо гемохроматозе. Для дифференциальной диагностики этих состояний исследуют коэффициент насыщения железом трансферрина (белок, транспортирующий железо в депо - печень, селезенку, ретикулоциты, костный мозг). Коэффициент насыщения трансферрина железом - это процент, который составляет железо сыворотки от трансферрина, в норме - 20-55%. Повышение этого коэффициента выше 55% не исключает гемохроматоз. Повышенный

уровень железа (в случае отсутствия гемохроматоза) является не только показателем тяжелого поражения печени, но и одним из предикторов неблагоприятного ответа на ПБТ.

#### **4. Скрининговое исследование на редкие гепатотропные вирусы (G, TTV, SEN)**

Данное исследование необходимо для прогнозирования прогрессирования заболевания или эффективности ПБТ. Самостоятельная роль этих вирусов в патологии человека изучается. В зависимости от возможностей лаборатории используют или определение генома вируса в ПЦР (предпочтительней), или определение антител к этим вирусам.

Таким образом, диагностика вирусных поражений печени достаточно сложна и требует привлечения врачей узких специальностей (эндокринологов, морфологов, нефрологов и др.). Ежегодно появляются новые представления о тех или иных заболеваниях печени, открываются новые вирусы, изучается гепатотропность уже известных возбудителей. Неоспоримым фактом является только неукоснительный рост вирусных поражений печени, часто приводящих к потере больными трудоспособности. Исходя из вышеизложенного, все пациенты при подозрении на ВГ должны быть обследованы в специализированных гепатологических центрах для более качественной и своевременной диагностики и лечения патологии печени.

## **ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА ВИЧ ИНФЕКЦИИ**

Основным материалом для лабораторной диагностики ВИЧ является сыворотка крови. С целью исследования в очень редких случаях используют слюну и слезную жидкость, чаще всего в ходе клинических исследований.

### **Первичная диагностика ВИЧ**

#### **1. Серологические исследования**

Обследование с помощью ИФА с последующим подтверждением диагноза с помощью иммуноблоттинга. Результат считают положительным, если получены положительные результаты как при ИФА, так и при иммуноблоттинге. Серологические тесты обычно становятся положительными через 3-12 недель после инфицирования.

#### **Принцип метода ИФА**

В основе метода ИФА лежит определение в сыворотке крови суммарных антител к ВИЧ. При наличии в испытуемых образцах сыворотки крови антител к ВИЧ окраска реактива тем более интенсивней, чем выше титр антител. Минимальная пороговая окраска принимается за положительный результат.

#### **Преимущества ИФА**

1. Можно анализировать большие партии образцов
2. Возможность автоматизации
3. Использование оборудования, доступного для большинства лабораторий

## **Недостатки ИФА**

1. Возможность получения ложных результатов (+ или -) при тестировании с помощью одной тест системы
2. Необходимость перепроверки результатов на нескольких тест-системах

### **Экспресс-диагностика и ее преимущества (ВОЗ, 2004)**

1. Высокая специфичность и чувствительность (>99%),
2. Легкость использования образцов крови из пальца,
3. Отсутствие необходимости использования дорогостоящего лабораторного оборудования, электричества или воды,
4. Простота интерпретации результата и быстрота получения результата (<30 мин),
5. Простота хранения при комнатной температуре в течении нескольких недель,
6. Позволяет децентрализовать КИТ на ВИЧ
7. Способствует снижению риска профессионального заражения ВИЧ при заборе анализа крови из пальца

### **Трактовка результата ИФА**

1. Если в ИФА получен положительный результат, проводят два повторных исследования данного образца тем же методом; при двухотрицательных результатах повторных исследований кровь считается янеинфицированной.

2. Если же одно или оба исследования повторяют ранее полученный положительный результат, его перепроверяют на втором этапе -стадия подтверждения диагностики.

#### **2. Метод последовательных тестов**

- \* При использовании этого метода все лица проходят экспресс анализ на ВИЧ.
- \* При положительном результате проводится дополнительное тестирование на другой тест-системе. При отсутствии корреляции результатов двух тестов, проводится еще один анализ на третьей тест-системе по экспресс-методу. Таким образом тесты проводятся последовательно.

#### **3. Метод параллельных тестов**

- \* При использовании этого метода все пациенты проходят анализ на двух тест-системах одновременно (т.е. параллельно). При расхождении результатов (пр. в 1% случаев) проводится третий тест по экспресс-методу.

#### **4. Принцип метода иммуноблоттинга**

- \* Разделенные с помощью электрофореза протеины ВИЧ наносят на полоски нитроцеллюлозы. Обработанные таким образом полоски погружают в раствор, содержащий исследуемую сыворотку крови.
- \* При наличии в анализируемой сыворотке антител к протеинам ВИЧ-антитела связываются с соответствующими антигенами ВИЧ в тех зонах полоски, где находятся соответствующие вирусные протеины.
- \* Выявление в сыворотке антител к поверхностным протеинам ВИЧ (gp160, gp120, gp41), как правило, обнаруживающихся в сочетании с антителами к ядерному белку р24, свидетельствует о наличии ВИЧ-инфекции.

**Положительный результат означает:**

- ВИЧ присутствует в организме человека
- Организм выработал антитела против ВИЧ
- Не является показателем состояния здоровья человека
- Означает, что человек может инфицировать другого человека

**Отрицательный результат означает**

- Антитела к ВИЧ не обнаружены в крови
- Возможно, ВИЧ-инфекции нет
- Антитела вырабатываются в среднем через два-три месяца от момента заражения ВИЧ (период «окна»)

**Неопределенный результат означает**

- Нельзя с уверенностью определить результат теста на ВИЧ
- Необходимо повторное тестирование на ВИЧ через 2-3 недели

**Причины ложноположительного результата ИФА**

- Ревматоидный артрит
- Рассеянный склероз
- Системная красная волчанка
- Сахарный диабет первого типа
- Болезнь Аддисона
- Анкилозный спондилит
- Хронический гепатит
- Рак (злокачественный, лимфопролиферативный)

А также у людей, которым недавно делали:

- Прививку против гриппа (в течение последних 30 дней)
- Инъекции гаммаглобулина
- Переливание крови или пересадку органов

**Причины ложноотрицательного результата**

Человек инфицирован недавно, и его организм еще не успел выработать достаточное количество антител к ВИЧ

## **5. Полимеразная цепная реакция**

**Выявление вирусных частиц ПЦР ДНК** представляет собой качественный метод для выявления провирусной ДНК, встроившейся в геном клеток. Используется главным образом для выявления вирусных частиц при обследовании новорожденных на ВИЧ и при уточнении сомнительных результатов серологических тестов.

### **Принцип метода ПЦР**

Из лимфоцитов, инфицированных ВИЧ, получают фракцию, содержащую РНК (в том числе РНК вируса). Затем при помощи фермента термостабильной ДНК-полимеразы «нарабатывают» многочисленные молекулы ДНК-копии, что позволяет существенно повысить чувствительность метода. Полученную одноцепочечную ДНК сорбируют на специальных фильтрах, после чего добавляют ДНК-зонды. В случае, если исследуемые нуклеиновые кислоты не содержат генетического материала ВИЧ, меченые зонды не задерживаются

на фильтре. По тому, какая часть метки остается на фильтре в результате гибридизации, делают вывод о присутствии в исследуемых лимфоцитах ВИЧ.

Основными показателями качества тест-системы являются:

- Чувствительность- частота правильных результатов теста у ВИЧ положительных людей колеблется в разных тест-системах от 99% до 100 %
- Специфичность- частота правильных результатов теста у ВИЧ отрицательных людей колеблется в разных тест-системах от 95 до 100%

Результаты тестирования

- Сообщать необходимо окончательный результат теста
- Четко объяснять, что означает результат
- При необходимости повторного забора крови четко и правдиво объяснить, для чего это нужно

## ТЕСТОВЫЕ ВОПРОСЫ

1. Заражение ВИЧ может быть признано профессиональным, если специфические маркеры вируса выявлены у пострадавшего в результате медицинской аварии при обследовании в такие сроки, кроме:

- A. первые 5 дней после аварии
- B. через 1 месяц
- C. через 3 месяца
- D. через 6 месяцев
- E. через 1 год

2. Какие лабораторные признаки не характерны для СПИД-ассоциированного комплекса?

Снижение уровня циркулирующих иммунных комплексов

- A. Соотношение CD4/CD8 ниже 1,0
- B. Анемия
- C. Лейкопения
- D. Тромбоцитопения
- E. Лейкоцитоз

3. Укажите какие лабораторные признаки не характерны для СПИД-ассоциированного комплекса?

- A. Снижение содержания иммуноглобулинов А та G.
- B. Снижение соотношения CD4/CD8 ниже 1,0
- C. Анемия
- D. Лейкопения
- E. Повышение уровня циркулирующих иммунных комплексов

4. Каким термином обычно определяют количественный уровень РНК ВИЧ в плазме крови?

- А. Вирусное напряжение
- В. Вирусное число
- С. Вирусная нагрузка
- Д. Вирусный коэффициент
- Е. Вирусный уровень РНК

5. Больная Т., 35 лет, операционная медсестра, обратилась к врачу на 8-й день постепенного развития болезни с жалобами на общую слабость, быструю утомляемость, темный цвет мочи. Утром заметила желтуху склер. При осмотре температура тела 36,8 С. Обнаружено увеличение печени +3 см. Изменения какого лабораторного показателя наиболее информативны при данной болезни?

- А. Аланинаминотрансферазы
- В. Амилазы крови
- С. Протромбинового индекса
- Д. Холестерина
- Е. Щелочной фосфатазы

6. Больная Т., обратилась к врачу на 7-й день постепенного развития болезни с жалобами на общую слабость, темный цвет мочи. Утром заметила желтуху склер. Изменения какого лабораторного показателя наиболее информативны при данной болезни?

- А. Аланинаминотрансферазы
- В. Амилазы крови
- С. Протромбинового индекса
- Д. Холестерина
- Е. Щелочной фосфатазы

7. . Больной 35 лет, жалуется на ноющую боль в правом подреберье, тошноту, снижение аппетита. Начало заболевания связывает с аппендэктомией. После нее через 2 месяца впервые появилась желтуха. Лечился в инфекционном отделении. Через 1 год стал замечать ноющую боль в правом подреберье, в анализах - повышение уровня билирубина. Ваш диагноз?

- А. Калькулезный холецистит
- В. Болезнь Жильбера
- С. Острый вирусный гепатит
- Д. Хронический холангит
- Е. Хронический гепатит

8. Больной В., 51 год, много лет употреблял алкоголь. Жалобы на тошноту, жидкий стул, желтуху кожи. Объективно: кожа и склеры иктеричны, атрофия мышц, субфебрильна температура. Печень на 3 см выступает из-под реберной дуги, болезненная при пальпации. Какой метод диагностики в данном случае наиболее информативен?

- А. Активность цитолиза (АсАТ, АлаТ)
- В.Протеинограмма
- С.Пункционная биопсия печени
- Д. Маркеры вирусных гепатитов
- Е. Нарушение клеточного иммунитета (Т4,Т8)

9.Больному поставлен диагноз: хронический гепатит В в стадии интеграции.

Какие маркеры будут в сыворотке больного в данной стадии заболевания?

- А. HBeAg
- В. Антитела к HBeAg
- С. ДНК HBV
- Д. Вирусная ДНК-полимераза
- Е.HBsAg, анти-HBe

10.У больного появилась слабость, ухудшился аппетит, начали тревожить боли в суставах конечностей, тяжесть в правом подреберье, рвота. Через 12 дней потемнела моча, а еще через день - пожелтели склеры и кожа. При иммунологическом исследовании крови обнаружено: IgG анти-HAV (+), HBsAg (+), IgM анти-HBcorAg (+), анти-HCV (-), анти-HDV (-). Больному 3 мес. назад удалили зуб. Наиболее вероятный диагноз?

- А.Вирусный гепатит В
- В. Вирусный гепатит А
- С. Вирусный гепатит С
- Д. Вирусный гепатит D
- Е. Вирусный гепатит Е

#### **ОТВЕТЫ К ТЕСТОВЫМ ВОПРОСАМ.**

1.А, 2.А, 3.А, 4.С, 5.А, 6.А, 7.Е, 8.С, 9.Е, 10.А.

### **СИТУАЦИОННЫЕ ЗАДАЧИ № 1**

Больная 30 лет, после пребывания на заработках в России, обратилась к дерматологу с жалобами на высыпания по всему кожному покрову. За последние 3 месяца отмечает резкое исхудание, общую слабость, постоянный субфебрилитет.

1. На какое заболевание целесообразно обследовать пациентку?
2. Какие исследования проводятся?

### **СИТУАЦИОННЫЕ ЗАДАЧИ № 2**

Больной 28 лет жалуется на увеличение лимфоузлов в течение полугода, прогрессирующую слабость, потливость, периодические подъемы температуры до 38 С. Несколько лет употребляет наркотики внутривенно. Пониженного питания, распространенный себорейный дерматит, пальпируются увеличенные безболезненные шейные, подмышечные и паховые лимфоузлы размером до 2-2,5 см.

1. Какое исследование стоит назначить в первую очередь?
2. Ваш предварительный диагноз?

### **СИТУАЦИОННЫЕ ЗАДАЧИ № 3**

Женщина 24 лет, обратилась к врачу в связи с длительной лихорадкой, ночной потливостью. За последние три месяца похудела на 7 кг. Имела беспорядочные половые связи. При объективном исследовании найдено увеличение всех групп лимфатических узлов, гепатолиенальный синдром. В крови: лейкоц.  $2,2 \cdot 10^9/\text{л}$ .

1. Какое заболевание необходимо заподозрить?
2. Чтобы подтвердить диагноз какие исследования проводятся?

### **СИТУАЦИОННЫЕ ЗАДАЧИ № 4**

Студента 20 лет в течение месяца тревожит значительная утомляемость, повышенная температура тела 39 С, профузный пот, исхудание. Объективно: увеличены все группы периферических лимфатических узлов, кандидоз ротовой полости, герпетические высыпания на губах. В общем анализе крови: лейкоциты  $3,3 \cdot 10^9/\text{л}$ , СОЭ 15 мм/час, В-лимфоциты 12 %, соотношение Тх/Тс2. Чтобы подтвердить диагноз какие исследования проводятся?

### **СИТУАЦИОННЫЕ ЗАДАЧИ № 5**

У больного, 37 лет, в течение 3 мес. развилось замедление мышечных и двигательных реакций, снижение памяти на имена, адреса, нарушились познавательные функции, появилась скованность, сонливость, развилась неряшливость, безразличное отношение к окружающим и к своему состоянию. Потерял в весе 12 кг. Отмечает перемежающуюся лихорадку. При осмотре - генерализованная лимфаденопатия.

1. Поставьте клинический диагноз.

2. Чтобы подтвердить диагноз какие исследования проводятся?

#### **СИТУАЦИОННЫЕ ЗАДАЧИ № 6**

40-летний больной на протяжении 2-х дней отмечает отсутствие аппетита, тошноту, общую слабость. Год назад перенес острый гепатит В, избегал диспансерного наблюдения. Объективно: температура тела повышена, кожа и склеры иктеричны, пальпируется увеличенная, умеренной плотности, болезненная печень, выступающая из-под края реберной дуги на 3 см по среднеключичной линии. Селезенка не увеличена. Моча умеренно темной окраски. Отмечается болезненность суставов при движениях. АЛАТ сыворотки 4,0 мм/(час\*л).

1. Какой наиболее вероятный диагноз?

#### **СИТУАЦИОННЫЕ ЗАДАЧИ № 7**

42-летний больной получил два месяца тому назад переливание крови. Постепенно увеличилась слабость, ухудшился аппетит, появились артралгии, небольшая тошнота. На 12-й день заметил незначительную желтуху, обратился к врачу. При осмотре - общее состояние вполне удовлетворительное. Температура тела нормальная, Ps 60 за 1 мин, АД 100/70 мм рт. ст. Умеренно увеличены печень и селезенка, живот при пальпации не болезнен. В крови найдены anti-HCV IgM.

1. Какое из изменений в общем анализе крови наиболее вероятно?
2. Ваш диагноз

#### **СИТУАЦИОННЫЕ ЗАДАЧИ № 8**

Больная на протяжении полугода получала многократные парентеральные инъекции по поводу бронхиальной астмы. Постепенно исчез аппетит, начала тревожить слабость, артралгии, потом потемнела моча, появилась желтуха кожи. Объективно: температура 37°C, пульс 68 за 1 мин, АД 115/70 мм рт. ст.. Печень +4 см, селезенка +1 см, кожа и склеры иктеричны. В общем анализе крови: количество лейкоцитов 3,6 г/л, из них 52 % лимфоцитов, СОЭ 6 мм/час, активность АЛАТ повышена в 10 раз.

1. Какой из маркеров вероятнее всего будет присутствовать в крови больного?

#### **СИТУАЦИОННЫЕ ЗАДАЧИ № 9**

Мужчина 30 лет, инъекционный наркоман. Стаж наркомании 12 лет. Жалуется на слабость, умеренную желтуху, тяжесть в правом подреберье. Состояние ухудшалось постепенно. Биохимические показатели: общий билирубин 28,2 мкмоль/л; АЛАТ 1,0, АсАТ 0,8 ммоль/(л\*час).

1. Определите диагностический метод, который целесообразно провести для установления этиологического диагноза?
2. Ваш предварительный диагноз?

### **СИТУАЦИОННЫЕ ЗАДАЧИ № 10**

На 15-й день болезни у 17-летнего больного гепатитом В в крови найдены anti-HBs. Накануне состояние больного значительно ухудшилось. Возникло возбуждение, было носовое кровотечение, на коже появилась геморрагическая сыпь, уменьшилась и стала болезненной при пальпации печень. Ps 106 за 1 мин, АД 110/ 70 мм рт. ст., температура тела субфебрильная.

1. Какие изменения показателей крови у больного будут наиболее вероятными?

### **ОТВЕТЫ К СИТУАЦИОННЫМ ЗАДАЧАМ.**

1. ИФА, ПЦР и Иммуноблотинг.
2. Исследование крови на наличие антител к ВИЧ
3. ИФА, ПЦР и Иммуноблотинг.
4. ИФА, ПЦР и Иммуноблотинг.
5. ИФА, ПЦР и Иммуноблотинг.
6. Хронический вирусный гепатит, умеренная активность.
7. Лейкопения
8. Анти-HBe
9. Полимеразная цепная реакция (HCV-RНК)
10. Снижение протромбинового индекса

### ТЕСТОВЫЕ ВОПРОСЫ К РИСУНКАМ

1. Поставьте предварительный диагноз больному со СПИД? (рис-1).

- A. Саркома Капоши
- B. Ветряная оспа
- C. CMV-инфекция
- D. Натуральная оспа
- E. Фурункулез



2. Поставьте предварительный диагноз больному со СПИД? (рис-2).

- A. Саркома Капоши
- B. Краснуха
- C. Герпетическая инфекция
- D. Натуральная оспа
- E. Лейкоплакия



3. Поставьте предварительный диагноз больному со СПИД? (рис-3).

- A. Саркома Капоши
- B. Менингококковая инфекция
- C. CMV-инфекция
- D. Токсоплазмоз
- E. Сепсис



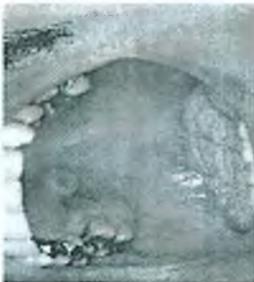
4. Кого считают подозрительным на СПИД? (рис-4).

- А. При потере массы тела 9 % и больше
- В. При потере массы тела 5 % и больше
- С. При потере массы тела 6 % и больше
- Д. При потере массы тела 10 % и больше
- Е. При потере массы тела 3% и больше



5. Поставьте предварительный диагноз больному со СПИД? (рис-5).

- А. Саркома Капоши
- В. Кандидоз
- С. CMV-инфекция
- Д. Туляремия
- Е. Агранулоцитоз



6. Поставьте предварительный диагноз? (рис-6).

- A. СаркомаКапоши
- B. Кандидоз
- C. CMV-инфекция
- D. «Волосатая» лейкоплакия
- E. Дифтерия



7. Поставьте предварительный диагноз больному со СПИДом? (рис-7).

- A. СаркомаКапоши
- B. Кандидоз
- C. CMV-инфекция
- D. Токсоплазмоз
- E. Дифтерия



8. Схема лечения, обеспечивающая наибольшую эффективность при ВИЧ-инфекции? (рис-8).

- A. 1 НИОТ + 2 ИП
- B. 1 НИОТ + 1 ИП + 2 ННИОТ
- C. 3 НИОТ
- D. 2 НИОТ + 2 ИП
- E. 2 ННИОТ + 1 ИП



9. Схема лечения, обеспечивающая наибольшую эффективность при ВИЧ-инфекции?(рис-9).

- A. 1 НИОТ + 2 ИП
- B. 1 НИОТ + 1 ИП + 2 ННИОТ
- C. 2 НИОТ
- D. 2 НИОТ + 1 ИП
- E. 2 ННИОТ + 1 ИП



10. Схема лечения, обеспечивающая наибольшую эффективность при ВИЧ-инфекции?(рис-10).

- A. 2 НИОТ + 1 ИП
- B. 1 НИОТ + 1 ИП + 2 ННИОТ
- C. 2 НИОТ
- D. 2 НИОТ + 2 ИП
- E. 2 ННИОТ + 1 ИП



#### ОТВЕТЫ К ТЕСТОВЫМ ВОПРОСАМ РИСУНКАМ

- 1. А.
- 2. А.
- 3. А.
- 4. D.
- 5. А.
- 6. D.
- 7. А.
- 8. С.
- 9. D.
- 10. E.

## ИСПОЛЬЗОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Возианова Ж.И., Голубовская О.А. Возможности современного комплексного ультразвукового исследования печени у больных с вирусным гепатитом С // Журнал Академії медичних наук України. 2014. № 3. - С.43-49.
2. Гепатит С як загальномедична проблема / Гураль А.А., Сергеева В.Ф., Марієвський В.Ф., Шагінян В.Р. // Матеріали VII з'їзду інфекціоністів України «Інфекційні хвороби-загальномедична проблема». -Тернопіль: «Укрмедкнига», 2007. - С. 463-464.
3. Гепатит С среди потребителей инъекционных наркотиков в новых странах - членах Европейского Союза и соседних государствах: ситуация, руководства и рекомендации. - Чарльз Гор, ДжефЛазарус и др. -ЕхАрте. - Литва. - 2007. - 125 с.
4. Громашевская Л.Л., Пинский Л.Л. Нарушения метаболических процессов во внеклеточном матриксе, их регуляции при развитии фиброза печени // Лабораторная диагностика. - 2008. - № 4. - С. 3-8.
5. Пинский Л.Л. Показатели железоиндуцированной хемилюминесценции сыворотки крови и гомогената печени у больных хроническим гепатитом Св зависимости от стадии фиброза // Лабораторная диагностика. - 2004. - № 2. - С. 22-26.
6. Приказ Минздрава Узбекистана. № 81 от 04 марта 2015 г., и «Национальный клинический протокол по использованию АРВ препаратов для лечения и профилактики ВИЧ-инфекции». 12 стр.
7. Пункционная биопсия в диагностике хронических заболеваний печени / А.С. Логинов, Л.И. Аруин, С.Д. Шепелева, В.Д. Ткачев // Терапевтический архив. - 2009. - Т. 68, № 2. - С. 5-7.
8. Руководство для педагогов. По программе «ВИЧ-инфекция у детей». Даминов Т.А., Туйчиев Л.Н., Худайкулова Г.К., Ташкент, 2014, 28 стр.
9. Сафиуллина Н.Х., Зпойко О.О., Климова Е.А. и др. Определение гиалуроновой кислоты и коллагена IV типа в сыворотке крови больных гепатитом С -неинвазивный метод диагностики фиброза печени // Материалы научно-практической конференции «Инфекционные болезни и антимикробные средства» (Москва, 6-7 октября, 2007 г.).
10. Шкурба А.В., Голубовская О.А. Актуальные вопросы лабораторной

диагностики гепатита С // Лабораторная диагностика. - 2007. - № 10. - С. 10-22.

11. Grob PJ. Hepatitis B: virus, pathogenesis and treatment. *Vaccine* 2008; 16: S11-6.

12. Pawlotsky JM. Use and interpretation of virological tests for hepatitis C. *Hepatology* 2010; 36 (suppl. 1): S65-73.

13. Friedman S.L. 2003. Liver fibrosis - from bench to bedside. *J. Hepatol.*; 38 (Suppl. 1): S38-S53.

14. Zheng RQ, Wang QH, Lu MD et al. Liver fibrosis in chronic viral hepatitis: an ultrasonographic study. *World Gastroenterol* 2013; 9 (11): 58-65.

15. [www.moodle.sammi.uz](http://www.moodle.sammi.uz). Электронные ресурсы.