

УДК 616.3;616-07:061.62

Б.Е. Абдрахманова

ГКП на ПХВ «Городская больница №2», г. Астана, Казахстан

ВЫЯВЛЕНИЕ СЕРОЛОГИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ ВИРУСНОГО ГЕПАТИТА В У ПАЦИЕНТОВ В УРГЕНТНОЙ ПРАКТИКЕ

ТҰЖЫРЫМДАМА

Мақсаты: Ургентті қызмет тәжірибесінде науқастарда В гепатитінің әр түрлі серологиялық маркерлерінің қосарласуын анықтау

Материалдары мен әдістері: Ургент қызметі бойымен 2038 емделушілер тексерілді (3, 97%, ерлер - 54-66, 7%, әйелдер - 27-33, 3%).

Нәтижесі: 81 науқаста HBsAg анықталды. HBsAg позитивті науқастардың қанында 18,5% ғана HBeAg анықталды. 12, 3% науқастарда қарсы

- HBc IgM өткір В гепатиттің таңбалағышымен көрсетілді және 92,6% - 75 емделушілерде aHBcIgG анықталды. HBsAg позитивті науқастардың 28, 4% жағдайларында дельта инфекция аралас және 1, 2% гепатит А микст жұқпасы болды. 83,95% HBsAg позитивті науқастарында ВГВ ДНК полимераз - тізбегі реакциямен табылды.

Маңызды сөздер: В вирусы гепатиті, ургент, серологиялық маркерлер.

ABSTRACT

Aim: - detection of various combinations of serological markers of hepatitis B virus infection in patients in emergency practice.

Materials and methods: 2038 patients from emergency practice were examined, 81 patients (3.97%, 54 males - 66.7%, 27 females - 33.3%) possessed the HBsAg virus.

Results: HBeAg was present in the blood of only 18,5 HBsAg positive patients. In 12.3% of patients

with anti-HBcIgM it was a marker of acute hepatitis B, aHBcIgG was identified in 75 patients (92,6%). In 28.4% of cases the HBsAg of positive patients was found in combined forms with delta infection and in 1.2% of mixed infection of hepatitis A. The HBV DNA was detected in 83,95 % of the HBsAg positive patients by polymerase chain reaction.

Keywords: viral hepatitis B, urgent, serological marker.

ВВЕДЕНИЕ

В последние годы регистрируемая заболеваемость вирусным гепатитом В находится на уровне 18-22 случая на 100000 населения и указывает на ее рост. Другим показателем широкого распространения гепатита В служит бессимптомное носительство вирусного гепатита В (ВГВ, HBV) [1,2].

Установить вирусную природу гепатита и получить информацию об его этиологии возможно только путем выявления серологических маркеров вируса гепатита В, к которым относят вирусные белки (ан-

тигены), специфичные антитела, вырабатываемые организмом в ответ на инфекцию, и нуклеиновые кислоты вируса (ДНК или РНК), представляющие его геном. Применительно к вирусным гепатитам, иммуноферментный анализ относится к непрямым методам обнаружения возбудителя, позволяющим установить этиологию болезни. HBsAg - основной маркер инфицирования HBV. При остром вирусном гепатите в большинстве случаев (90-80 %). HBsAg удается выявить в инкубационном периоде, начи-

ная с 3-5-й недели заражения. Средняя продолжительность циркуляции антигена - 70-80 дней. При хроническом гепатите в HBsAg может циркулировать в крови больного на протяжении многих лет [3,4]. Недостатком данного метода является невозможность его использования при заражении мутантными формами вируса. Решение этих задач стало возможным в результате внедрения молекулярно-биологических методов генодиагностики, к которым относится ПЦР, что существенно расширяют возможности лабораторной диагностики вирусного гепатита В, позволяя непосредственно выявить

возбудитель, оценить уровень вирусемии в течение заболевания. В отличие от ИФА, ПЦР-анализ относится к прямым методам обнаружения возбудителя в клиническом материале, что позволяет оценить активность вирусного процесса и проследить процессы распространения возбудителя в различных органах и тканях [5].

Цель настоящего исследования - выявляемость различных сочетаний серологических маркеров инфицирования вирусом гепатита В у больных в ургентной практике.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Клинико-диагностической лабораторией ГКП «Городская больница №2» 2038 пациентам 1924-1988 года рождения, из них мужчин – 1113 – 54,6%, женщин – 925 - 45,4% проведено исследование HBsAg - основного маркера инфицирования вирусного гепатита В по ургентной службе – это контингент необследованных при поступлении на госпитализацию, экстренная диагностическая предоперационная подготовка, диагностическая подготовка перед гемотрансфузией и по другим экстренным показаниям. Из них у 81 пациента (3,97%), из них мужчин – 54 – 66,7%, женщин – 27 - 33,3%, был обнаружен HBsAg с сигналами электроиммунохемилюминесценции (ЭИХЛ) от 1,0 до 7177, которые считаются результатом от слабоположительного до резко положительного, данные представлены в таблице 1.

Таблица 1. Распределение пациентов по сигналам ЭИХЛ

Группы	Сигналы ЭИХЛ	Количество пациентов (n)
1	1-50	(n=16)
2	50-250	(n=3)
3	250-700	(n=3)
4	Более 700	(n=59)
	Итого	81

Всем пациентам, у которых был обнаружен HBsAg проведены исследования подтверждающего

теста HBsAg с применением реакции нейтрализации, а также дополнительные маркеры вирусного гепатита В. Пациенты были распределены на 4 группы, критериями которых служили интенсивность сигналов ЭИХЛ. Дополнительно у пациентов определялись вирусный гепатит А, С и Д. Исследования проводились на анализаторах CobasE 411 методом ЭИХЛ с применением тест систем Roche Diagnostics. У 8 из 16 пациентов с обнаруженными HBsAg сигналами ЭИХЛ от 1,0 до 50 (группа 1) при постановке подтверждающего теста HBsAg не был выявлен HBsAg, у остальных (группы 1-4) был подтвержден положительный HBsAg. Кроме того, у 2 пациентов из 1 группы с слабоположительным сигналом был выявлен вирусный гепатит С с высоким уровнем сигнала ЭИХЛ (2038 и 2695 соответственно), исходя из этого было сделано предположение, что появление слабоположительного сигнала HBsAg может быть связано с неспецифическим взаимодействием компонентов реакции, с наличием сочетанной инфекции или о возможности перекрестной реакции с другими вирусными антигенами при проведении тестов и многими другими факторами [6].

Основной лабораторной диагностики инфекции HBV является определение наиболее широко используемых серологических маркеров инфицирования вирусом: HBsAg, HBeAg, анти-HBc класса IgM и IgG, анти-HBe и анти-HBs, HBV ДНК и активности вирусной ДНК - полимеразы. В зависимости от течения вирусного гепатита В спектр изменения серологических маркеров выглядит по-разному, это позволяет установить диагноз гепатита В и определить стадию заболевания (таблица 2).

Таблица 2. Различные сочетания серологических маркеров инфицирования вирусом гепатита В и их выявляемость

Маркеры	Сигналы ЭИХЛ			
	1-50 (n=16)	50-250 (n=3)	250-700 (n=3)	Более700(n=59)
HBsAg – маркёр как острого, так и хронического гепатита	6-сл+/10+	3+	3+	59+
Подтверждающего теста HBsAg	8-/8+	3+	3+	59+
HBc AgIgM – маркёр активной репликации вируса	16-	3-	3-	10+/49-
aHBcIgG маркёр свидетельствующий о перенесённом гепатите В	6-/10+	3+	3+	59+
HBeAg	16-	3-	3-	15+/44-
маркёры гепатита D - aHDV суммарные	15-/1+	2-/1+	1-/2+	19+/40-
маркёры гепатита А - HAVIgM	16-	3-	3-	58-/1+
ДНК HBV	13-/3+	3+	3+	59+

Примечание: + положительный результат, - отрицательный результат

Наличие HBsAg в крови свидетельствует о присутствии вируса в печени и с большой долей вероятности в крови. Не всякая сыворотка, содержащая HBsAg, содержит вирус гепатита В. В ряде случаев ДНК вируса встраивается в ДНК гепатоцита не полностью, а частично, только тем участком, который кодирует синтез HBsAg. В этих случаях синтезируются HBsAg без других компонентов вириона, то есть без других антигенов. Считают, что такая ситуация возникает при «здоровом» носительстве HBsAg [7].

HBeAg циркулирует в крови больного только в присутствии HBsAg, поэтому целесообразно было обследовать именно HBsAg – позитивные сыворотки. При исследовании HBeAg вируса гепатита В в группах 1-3 не был выявлен. В 4 группе у 15 пациентов, что составляет 18,5% от HBsAg позитивных больных, обнаружен HBeAg. HBeAg вируса гепатита В характеризует высокую инфекционность крови, являясь показателем активной репликации HBV. В первую неделю желтушного периода он выявляется у 85-95 % больных, исчезает к концу желтушного периода. Выявление HBeAg в течение двух и более месяцев служит прогностическим признаком развития хронического гепатита. У большинства больных хроническим гепатитом с высокой активностью процесса HBeAg сохраняется на длительный срок (до нескольких лет). Однако, HBeAg присутствует в крови не у всех HBsAg позитивных больных и выявляется непродолжительное время.

При исследовании маркера активной репликации вируса анти-HBcIgM в группах 1-3 также не был

выявлен. В 4 группе у 10 пациентов анти-HBcIgM был выявлен, что составляет 12,3% от HBsAg позитивных больных.

Антитела к ядерному антигену вируса гепатита В класса М (анти-HBcIgM) - маркер активной репликации HBV и острой инфекции. Выявляются через 1-2 недели после обнаружения HBsAg и сохраняются на протяжении 2-18 месяцев. У 4-20 % больных острым гепатитом В анти-HBcIgM являются единственным маркером инфекции. При ХГВ анти-HBcIgM могут быть выявлены у некоторых больных в меньших титрах, чем при острой инфекции, причем титр антител отражает тяжесть гепатита [8.9]. При проведенном исследовании a-HBcIgG– маркера, свидетельствующего о перенесённом гепатите В у 6 пациентов, которые вошли в 1 группу из всех 81 обследованных aHBcIgG не обнаружился. Однако, он был выявлен у оставшихся 10 пациентов в 1 группе, а во 2, 3, 4 группах у всех 65 пациентов обнаружился aHBcIgG, что в сумме составило 92,6% от HBsAg позитивных больных.

В результате проведенных тестов было сделано предположение, что у 6 aHBcIgG негативных пациентов возможно и нет вирусного гепатита В. А первичная ложноположительная реакция на HBsAg связана с неспецифическим взаимодействием компонентов реакции при проведении теста. Подтверждением отсутствия ВГВ было и то, что тест определения ДНК HBV методом ПЦР у этих же пациентов не выявил наличия ДНК ВГВ. Антитела к HBcAg класса G (анти-HBcIgG) появляются практически одновременно с анти-HBcIgM. Как правило,

они остаются у всех лиц, переболевших гепатитом В, пожизненно. У 95 % носителей HBsAg наряду с HBsAg циркулируют и анти-HBcIgG [10].

Для выявления у пациентов с вирусным гепатитом В коинфекций дополнительно определялись вирусный гепатит А и Д. Результаты наших исследований на маркеры гепатита D - aHDV суммарные показали, что у 1 пациента в 1 группе, у 1 пациента в 2 группе, у 2 пациентов в 3 группе и у 19 пациентов в 4 группе (всего 23 пациента, что составило 28,4% из всех 81 обследованных HBsAg позитивных больных) обнаружилось суммарные aHDV. Диагноз дельта - коинфекции определяется только в ходе ранней стадии первичной ВГД инфекции или могут появиться в фазе реконвалесценции [11]. При

проведенном обследовании на маркеры гепатита А – HAV IgM выяснилось, что только у 1 пациента из всех 81 обследованных HBsAg позитивных больных обнаружилось антитела к HAV, что составило 1,2%. Изучение показателя ДНК ВГВ позволило определить, что у 68 пациентов из всех обследованных HBsAg позитивных больных (83,95%) был обнаружен и подтвержден ВГВ методом полимеразно-цепной реакцией. В случае суперинфекции ВГД у больного ХГВ могут быть обнаружены ДНК ВГВ. При остром ВГВ и обострении хронического ВГВ вирусные частицы – ДНК - можно обнаружить в гепатоцитах и сыворотке крови больного, при интегративной форме хронического ВГВ и в стадии ремиссии HBV в сыворотке крови можно не выявить [12.13].

ВЫВОДЫ

Таким образом, выявленные особенности выявляемости различных сочетаний серологических маркеров инфицирования вирусом гепатита В при проведении лабораторного обследования у больных в ургентной практике ГКП «ГБ№2» позволили установить:

1. У пациентов с обнаруженными HBsAg сигналами ЭИХЛ ниже 50 необходима обязательная постановка подтверждающего теста HBsAg для исключения ложноположительного результата, который возможно связан с неспецифическим взаимодействием компонентов реакции, с наличием сочетанной инфекции при проведении тестов.

2. HBeAg присутствует в крови не у всех HBsAg позитивных больных (18,5%).

3. У 12,3% больных анти-HBc IgM явился маркером острого гепатита В. При ХГ В анти-HBc IgM выявлен у больных в меньших титрах, чем при острой инфекции, напротив, у 75 пациентов aHBc IgG был выявлен, т.е. у 80,2% больных наряду с HBsAg циркулируют и анти-HBc IgG.

4. В 28,4% случаев HBsAg позитивных больных приходилось на сочетанные формы с дельта инфекцией и в 1,2% клинического случая микст инфекция гепатита А.

5. У 83,95% HBsAg позитивных больных обнаружен и подтвержден ВГВ методом полимеразно-цепной реакцией.

ЛИТЕРАТУРА

1. Соринсон С.Н. Вирусные гепатиты, С-Пб., Теза, 1997.- 309 с.
2. Вирусные гепатиты в Российской Федерации//Справочник под ред. Г.Г.Онищенко, А.Б.Жебруна, С-Пб.: Изд-во НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера.-2009.-220 с.
3. Михайлов М.И. Лабораторная диагностика вирусных гепатитов, - Лаборатория.-1999г.-№1.- С.3-6.
4. Иптышева Е.П.,Алахтаева Т.А., Маслова В.М. и др.//Новости «Вектор-Бест», 2009.-№2 (59).-С.11-14.
5. Момыналиев К.Т., Говорун В.М. Перспективы применения методов ИФА – диагностики в лабораторной службе// Клиническая лабораторная диагностика.-2000.-№4.-С.25-32.
6. Медицинская лабораторная диагностика (программы и алгоритмы), С-Пб., «Интермедика».-1997г.- С.113-136.
7. Ястребова О.Н., Ткачев В.К., Нетесова И.Г. и др.//Справочник заведующего КДЛ, 2006.- №3.-С.-13-20.
8. Yuasa T., Ishikawa G., Manabe S., et al. The particle size of Hepatitis B virus estimated..., J. Gen Virol 1991 Aug, 72 (Pt8); 2021-4.
9. Афанасьев А.Ю., Зубов С.В., Жданов Ю.Е., Криволюскова А.В. ИФА диагностика в разграничении острого и хронического течения//Российский журнал гастроэнтерологии, колопроктологии, 1995г.- 5.- №3.-С.12-14.
10. Hernandez-Aguado I., Bolumar F., Moreno R., et al., False-positive tests for syphilis associated with human immunodeficiency virus and hepatitis B virus infection among intravenous drug abusers Valencian Study Group on HIV Epidemiology. EurJ Clin Microbiol Infect Dis 1998 Nov; 17(II):784-7.
11. Нетесова И.Г., Ярославцева О.А., Шустов А.В. и др.//Клиническая лабораторная диагностика, 2005.- №12.-С.48-51.
12. Шляхтенко Л.И.// Материалы конференции «ГепатитА:эпидемиология, диагностика,клиника и вакцинопрофилактика», М., 2002.- С. 12-18.
13. Бондаренко И.Г. Актуальные вопросы контроля качества иммунодиагностики вирусных гепатитов// Лабораторная медицина, №1.-1998.- С.15-18.

Материал поступил в редакцию 02.24.2013 г.