

Тема 28
Микробиологическая диагностика вирусных гепатитов.

План занятия:

1. Проблема вирусных гепатитов

2. Классификация вирусных гепатитов.

- Вирус гепатита А, таксономия, структурные особенности вириона, культивирование. Пути заражения, патогенез, клиника, микробиологическая диагностика, лечение и специфическая профилактика гепатита А.

- Вирус гепатита В, таксономия, структурные особенности вириона, антигены - HBs, HBc, HBe, HBx, особенности репродукции. Пути заражения, патогенез, механизм персистенции, клиника, микробиологическая диагностика, лечение и специфическая профилактика

- Вирус гепатита Д, особенности строения вириона, антигены. Особенности течения (коинфекция, суперинфекция), микробиологическая диагностика, лечение и профилактика

- Вирус гепатита С, структурные особенности вириона, генотипы, антигенная изменчивость. Пути заражения, патогенез, клиника, микробиологическая диагностика, лечение, проблемы специфической профилактики гепатита С.

- Вирус гепатита Е, структурные особенности вириона, антигены, пути заражения. Патогенез, клиника, осложнения заболевания (во время беременности), микробиологическая диагностика, лечение и профилактика гепатита Е.

- Вирус гепатита G, структурные особенности вириона, роль в патологии человека, микробиологическая диагностика.

Вирусные гепатиты подразделяются на энтеральные — гепатиты А и Е и парентеральные — гепатиты В, С, D, G и др.

Вирус гепатита А вызывает острую инфекционную болезнь, характеризующуюся лихорадкой, преимущественным поражением печени, интоксикацией, иногда желтухой.

Таксономия, структура и антигенные свойства. Вирус гепатита А относится к семейству *Picornaviridae* роду *Hepatovirus*. Это РНК-содержащий вирус, просто организованный, имеет диаметр 27–28 нм.

Культивирование. Вирус выращивают в культурах клеток, цитопатический эффект не выражен.

Эпидемиология. Механизм заражения — фекально-оральный. Вирусы выделяются с фекалиями начиная со второй половины инкубационного периода и в начале клинических проявлений: в это время больные наиболее опасны для окружающих. Вирусы гепатита А передаются через воду, пищевые продукты, предметы обихода, грязные руки; в детских коллективах — через игрушки, горшки. Вирусы способны вызывать водные и пищевые эпидемические вспышки.

Болеют преимущественно дети в возрасте от 4 до 15 лет. Подъем заболеваемости наблюдается в летние и осенние месяцы.

Патогенез. Вирус гепатита А обладает гепатотропизмом. После заражения репликация вирусов происходит в кишечнике, а оттуда через портальную вену они проникают в печень и реплицируются в цитоплазме гепатоцитов. Повреждение гепатоцитов возникает не за счет прямого цитотоксического действия, а в результате иммунопатологических механизмов.

Клиника. Инкубационный период составляет от 15 до 50 дней. Начало острое, с повышением температуры и явлениями со стороны ЖКТ (тошнота, рвота и др.). Возможно появление желтухи на 5–7-й день. Клиническое течение заболевания, как правило, легкое, без особых осложнений; у детей до 5 лет — обычно бессимптомное. Продолжительность заболевания 2–3 нед.

Иммунитет. После инфекции формируется стойкий пожизненный иммунитет, связанный с IgG. В начале заболевания в крови появляются IgM, которые сохраняются в организме в течение 4–6 мес. и имеют диагностическое значение. У детей первого года жизни обнаруживаются антитела, полученные от матери через плаценту. Помимо гуморального, развивается и местный иммунитет в кишечнике.

Микробиологическая диагностика. Диагностика основана главным образом на определении в крови IgM и вирусного антигена в фекалиях с помощью ИФА, РИА и иммунной электронной микроскопии.

Лечение симптоматическое.

Профилактика. Неспецифическая профилактика направлена на повышение санитарной культуры населения, улучшение водоснабжения и условий приготовления пищи.

Для специфической пассивной профилактики используют иммуноглобулин по эпидемиологическим показаниям. Для специфической активной профилактики разработана и применяется инактивированная культуральная концентрированная вакцина. Разработана также ре-комбинантная генно-инженерная вакцина.

Вирус гепатита E (HEV) вызывает гепатит E — острое инфекционное заболевание с фекально-оральным механизмом передачи возбудителя и преимущественным поражением печени.

Таксономия. Возбудитель относится к семейству *Hepeviridae* роду *Hepevirus*.

Структура. Вирион безоболочечный, сферический, диаметр 27–34 нм. Капсид икосаэдрический. Геном — однонитевая плюс-РНК, которая кодирует РНК-зависимую РНК-полимеразу, папаинподобную протеазу и трансмембранный белок, обеспечивающий внедрение вируса в клетку.

Эпидемиология, клиника. Источник инфекции — больные люди. Основной путь передачи — водный. Инкубационный период длится от 2 до 6 нед. Заболевание сопровождается умеренным поражением печени, интоксикацией и реже желтухой. Прогноз благоприятный, кроме беременных, у которых заболевание может привести к летальному исходу на фоне геморрагического синдрома и острой почечной недостаточности.

Иммунитет после перенесенного заболевания стойкий.

Микробиологическая диагностика: 1) серологический метод — в сыворотке, плазме крови с помощью ИФА определяют антитела к вирусу (анти-HEV IgM, анти-HEV IgG); 2) молекулярно-генетический метод — применяют ПЦР для определения РНК вируса в кале и сыворотке крови больных в острой фазе инфекции.

Лечение. Симптоматическое.

Профилактика. Неспецифическая профилактика направлена на улучшение санитарно-гигиенических условий и снабжение качественной питьевой водой. Созданы неживые цельновирсионные вакцины, разрабатываются рекомбинантные и живые вакцины.

Возбудителями парентеральных вирусных гепатитов является вирус гепатита В, а также вирусы гепатитов D, C, G.

Гепатит В — антропонозная инфекция, преимущественно с парентеральным механизмом заражения, которая может протекать в форме вирусного носительства, острой и хронической форм и характеризуется поражением печени с возможным развитием острой печеночной недостаточности, хронического гепатита, цирроза печени и первичного рака печени (гепатоцеллюлярной карциномы).

Таксономия. ВГВ относится к семейству *Hepadnaviridae* роду *Orthohepadnavirus*.

Структура. ВГВ — сложноорганизованный ДНК-содержащий вирус сферической формы (диаметр 42–47 нм). Он состоит из сердцевинки, построенной по икосаэдрическому типу симметрии, состоящей из 180 белковых частиц, составляющих сердцевинный HBs-антиген и липопротеиновой оболочки, содержащей поверхностный HBs-антиген. Внутри сердцевинки находятся ДНК, фермент ДНК-полимераза, обладающая ревертазной активностью, и концевой белок HBe-антиген. Геном представлен двунитевой ДНК кольцевой формы, у которой плюс-цепь укорочена на 1/3 длины. Полноценная минус-цепь ковалентно связана с ДНК-полимеразой, которая достраивает плюс-цепь до полноценной структуры. Геном записан на минус-цепи.

Антигенные свойства. В липопротеиновой оболочке вируса находится HBs-антиген, который локализован в гидрофильном слое на поверхности вириона. В формировании HBs-антигена участвуют три полипептида в гликозилированной форме: preS1 — большой полипептид; preS2 — средний полипептид; S — малый мажорный полипептид. Присутствие HBs-антигена в крови свидетельствует об инфицированности организма ВГВ. Серцевинный HBs-антиген никогда не обнаруживается в свободном состоянии в крови. Его можно обнаружить в зараженных вирусом гепатоцитах. HBe-антиген также является сердцевинным антигеном, производным HBs-антигена. Появление HBe-антигена в крови связано с репликацией вируса в гепатоцитах. HBx-антиген — трансактиватор, накопление которого связывается с развитием первичного рака печени.

Культуральные свойства. ВГВ культивируется только в культуре клеток, полученной из ткани первичного рака печени, в виде персистирующей инфекции, без оказания цитопатического эффекта и с малым накоплением вирионов.

Эпидемиология. Наиболее восприимчивы дети первого года жизни. Для инфицирования достаточно 0,0001 мл инфицированной крови. Ежегодно в мире от патологий, связанных с гепатитом В, умирает около 2 млн человек. Заражение происходит при парентеральных манипуляциях (инъекциях, хирургических вмешательствах, трансплантации органов, искусственном оплодотворении, стоматологических и гинекологических манипуляциях, нанесении татуировок), переливании крови и при введении препаратов из крови. Часто заражение происходит также при половых контактах, через микротравмы в быту и, вероятно, трансмиссивно через клопов. ВГВ передается трансплацентарно от матери плоду и при прохождении плода через родовые пути. ВГВ у инфицированных лиц находится во всех биологических жидкостях: крови, слюне, моче, сперме, влагалищном секрете, синовиальной жидкости, цереброспинальной жидкости, грудном молоке.

Патогенез и клиника заболевания. Инкубационный период 3–6 мес. Инфекционный процесс наступает после проникновения вируса в кровь. ВГВ из крови эндоцитозом проникает в гепатоцит, видимо, при посредничестве сывороточного альбумина, рецепторы к которому обнаружены как на preS2-антигене ВГВ, так и на гепатоцитах. После проникновения вируса в гепатоцит вирусный нуклеокапсид достигает ядра, где высвобождается вирусный геном. Происходит достраивание плюс-нити ДНК ДНК-полимеразой до полноценной структуры, после чего возможно развитие двух типов вирусной инфекции: интегративной и продуктивной.

Интегративная инфекция сопровождается интеграцией кольцевой ДНК вируса в хромосому гепатоцита с образованием провируса. Клинически это проявляется вирусоносительством, показателем которого служит обнаружение в крови HBs-антигена. Следствием вирусоносительства может быть развитие первичного рака печени, при этом в крови начинает определяться HBx-антиген.

В процессе продуктивной инфекции происходит формирование новых вирусных частиц. Клинически это характеризуется активным инфекционным процессом в виде острого или хронического гепатита. Маркер репликации вируса — появление в крови HBe-антигена. Особенностью продуктивной вирусной инфекции при гепатите В считается то, что ВГВ сам

не обладает цитолитическим эффектом и не разрушает гепатоцит. Повреждение опосредуется CD8+ Т-лимфоцитами, которые узнают инфицированные клетки и лизируют их. Лизис клеток провоцирует клеточное воспаление и вызывает острый гепатит. Клиническая картина характеризуется симптомами поражения печени, в большинстве случаев сопровождается развитием желтухи. Возможны и безжелтушные формы. В 1% случаев возникают молниеносные формы, обычно со смертельным исходом. Острый гепатит в 5–10% случаев переходит в хроническое течение с развитием цирроза и пожизненного носительства ВГВ. Вероятность возникновения пожизненного носительства ВГВ особенно велика у детей первого года жизни (50–90% случаев).

Иммунитет. Гуморальный иммунитет, представленный антителами к HBs-антигену, защищает гепатоциты от вируса, элиминируя его из крови. Клеточный иммунитет, освобождает организм от инфицированных гепатоцитов благодаря цитолитической функции (CD8+) Т-лимфоцитов. У лиц с хроническим персистирующим гепатитом В отсутствует выраженный CD4+ иммунный ответ.

Микробиологическая диагностика. Используют серологический метод и ПЦР.

Лечение. Используют препараты интерферона, интерфероногены и ингибиторы ДНК-полимеразы.

Профилактика. Группу высокого риска заражения гепатитом В составляют хирурги, гинекологи, акушеры, стоматологи, манипуляционные сестры, сотрудники отделений переливания крови, гемодиализа, сотрудники лабораторий и лица, занятые в производстве иммунобиологических препаратов из донорской и плацентарной крови.

Специфическая профилактика осуществляется вакцинацией рекомбинантной генно-инженерной вакциной, содержащей HBs-антиген. Вакцинации подлежат все новорожденные в первые 24 ч жизни, далее — по календарю прививок.

Вирус гепатита D (ВГD) является сателлитом вируса гепатита В и представляет дефектный вирус, не имеющий собственной оболочки. Вирион ВГD имеет сферическую форму (диаметр 36 нм). Он состоит из однонитчатой минус-цепи РНК кольцевой формы и сердцевинного HDc-антигена (дельта-антигена), который построен из двух белков, имеющих полипептидные цепи разной длины. Эти белки регулируют синтез генома вируса. Различают три генотипа вируса, которые относятся к одному серотипу. В качестве внешней оболочки ВГD использует HBs-антиген вируса гепатита В.

Резервуаром ВГD в природе являются носители вируса гепатита В. Одновременное инфицирование вирусом гепатита В и ВГD (коинфекция) приводит к развитию умеренной формы болезни. Инфицирование ВГD больных хронической формой гепатита В утяжеляет течение инфекции, приводя к развитию острой печеночной недостаточности и цирроза печени. В свободном виде ВГD в крови инфицированных лиц не обнаруживается, РНК вируса можно обнаружить в биоптатах печени с помощью ПЦР.

Микробиологическая диагностика осуществляется путем определения антител к ВГD методом ИФА. В биоптатах печени методом ПЦР можно обнаружить в гепатоцитах РНК вируса.

Лечение и профилактика. Используют препараты интерферона. Вакцина против гепатита В защищает и от гепатита D.

Вирус гепатита С (ВГС) относится к семейству *Flaviviridae* роду *Hepacivirus*.

Морфология. ВГС является сложноорганизованным РНК-содержащим вирусом сферической формы (диаметр 55–65 нм). Капсид икосаэдрический, содержит структурный белок (core), HCc-антиген и неструктурные белки NS2, NS3, NS4, NS5, которые являются ферментами, необходимыми для репликации вируса. Капсид окружен липопротеиновой оболочкой с гликопротеиновыми шипами gpE1, gpE2/NS1.

Геном представлен одной линейной плюс-цепью РНК, обладает большой вариабельностью. Известно около 14 генотипов вируса. Наиболее вирулентен 1b генотип.

Культуральные свойства. Вирус не культивируется на куриных эмбрионах, не обладает гемолитической и гемагглютинирующей активностью. Экспериментальной моделью служит шимпанзе.

Эпидемиология и клиника. Наиболее часто ВГС передается при переливаниях крови (2/3 случаев), реже — трансплацентарно (10%) и половым путем (7%). В мире более 1/3 населения инфицированы ВГС. Инкубационный период составляет от 6 до 120 нед.

Клиническое течение. Часто встречаются безжелтушные формы, выявить заболевание при которых можно по увеличению аланинтрансаминазы в крови. Но несмотря на более легкое течение инфекции в острой форме, в 50% случаев процесс переходит в хроническое течение с развитием цирроза и первичного рака печени. Переход в хроническое состояние связан с отсутствием выраженного клеточного CD4-иммунного ответа, а также возможностью вируса избегать нейтрализующего действия антител вследствие большой изменчивости генома. Предполагается, что ВГС вызывает персистирующую в лимфатических узлах вирусную инфекцию.

Микробиологическая диагностика. Используются ПЦР и серологический метод. Проводится ИФА методом парных сывороток.

Лечение и профилактика. Для лечения применяют интерферон и рибовирин. Специфическая профилактика не разработана. Для неспецифической профилактики используют те же мероприятия, что и при гепатите В.