

УДК 616.32-002:578.24]-074:612.017+614.254.3

ПОЛІМЕРАЗНА ЛАНЦЮГОВА РЕАКЦІЯ ТА ХРОНІЧНИЙ ВІРУСНИЙ ГЕПАТИТ У ПРАКТИЦІ СІМЕЙНОГО ЛІКАРЯ

Дербак М.А., Архій Е.Й., Мартинич Т.Д., Дуфинець Н.М.

Закарпатська обласна санепідстанція; Ужгородський національний університет, кафедра пропедевтики внутрішніх хвороб, м. Ужгород

Ключові слова: полімеразна ланцюгова реакція, імуноферментний аналіз, вірусний гепатит

Вступ. За даними ВООЗ у 2000 році на земній кулі кількість носіїв HBsAg перевищила 400 млн. чоловік. Щороку у світі вірусом гепатиту В (HBV) інфікується понад 50 млн. людей, хворіють 20 млн. осіб, і близько 2 млн. гинуть від цієї інфекції та її наслідків. У 27 – 42 тис. інфікованих розвивається хронічне вірусоносійство [1].

Захворюваність на вірусні гепатити (ВГ) з парентеральним шляхом передачі в Україні залишається стійко високою. Тільки хворих на гепатит В (ГВ) щорічно реєструється 10 000 [2]. Від хронічних захворювань печінки, що пов'язані з персистенцією вірусів гепатитів, в Україні щорічно гине 8-10 тисяч осіб [9].

У 2000 році за даними офіційної статистики захворюваність на ВГВ становила 18,8 випадків на 100 000 населення [2]. Існування безсимптомного хронічного вірусоносійства та інших форм інфекції, які важко діагностувати, значно ускладнює боротьбу з ГВ. Носійство HBsAg триває десятки років, у деяких випадках довічно і лише 1-2% носіїв кожного року спонтанно елімінують вірус з організму [1].

Необхідно підкреслити, що дійсна кількість захворювань на ГВ у країні перевищує дані офіційної статистики, оскільки зареєстрована захворюваність включає в основному маніфестні форми. У той же час безжовтяничні і субклінічні форми часто не виявляються. На сьогоднішній день відомо, що основними джерелами інфекції, що підтримують високу інтенсивність епідемічного процесу, є не хворі гострими

вірусними гепатитами (інфікування від них має місце тільки у 4-6% хворих гострим ГВ), а більшою мірою так названі “безсимптомні носії” HBsAg. Саме такі форми перебігу захворювання переважають у практиці сімейного лікаря і є причиною „несподівано” виявлених цирозів, глибокої інвалідизації, а іноді навіть передчасної смерті. Більше ніж у 60% із них при поглибленому клініко-біохімічному, морфологічному та вірусологічному обстеженні виявляють ознаки малоактивного (персистуючого за попередньою класифікацією) хронічного гепатиту В [4, 7, 8].

На даний час відсутні ефективні методи лікування, здатні забезпечити елімінацію HBsAg у носія, тому розробка заходів, направлених на попередження проникнення вірусу в організм людини є пріоритетним напрямком сучасної медицини.

Мета роботи. Шляхом вивчення клініко-біохімічного стану “здорових” носіїв HBs-антигену оцінити діагностичну цінність існуючих стандартних схем обстеження, що використовуються сімейними лікарями, та розробити оптимальну програму контролювання перебігу ХВГВ з допомогою нових більш сучасних методів діагностики.

Матеріали та методи дослідження. Для виконання поставленої мети нами обстежено 34 хворих на ХВГВ, що знаходились на обліку у кабінеті інфекційних захворювань Ужгородської ЦМКЛ, як носії HBs-антигену, віком від 20 до 65 років. Жінок було 20(58,8%), а чоловіків –

14(41,2%) осіб. Тривалість захворювання у 16 (47%) хворих була в межах 1,5-2 роки, у 14 (41,2%) – 3-5 років та у 4 (11,8%) хворих 7-8 років. Діагноз встановлювали на основі епідеміологічних, клінічних, біохімічних, імунологічних, ультразвукових досліджень та результатів виявлення ДНК HBV методом полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР).

У всіх хворих на базі вірусологічної лабораторії Закарпатської обласної санепідстанції проводили визначення HBsAg, HBeAg і анти-HBcorIgM методом ІФА та ДНК методом PCR.

Серологічні маркери вірусу гепатиту В визначали в сироватці крові методом ІФА за допомогою наборів “Диагностические системы” м.Н.Новгород на апараті фірми HUMARIDER Німеччина. Фрагменти ДНК вірусу гепатиту В визначали в сироватці крові методом ПЦР з

допомогою комерційних наборів виробництва фірми “БИОКОМ”, Росія.

Результати та їх обговорення. В результаті проведених епідеміологічних розстежень нами встановлено, що 23 (67,7%) хворих в минулому перенесли гострий вірусний гепатит В з приводу чого лікувались стаціонарно, а 11(32,4%) хворих такі факти заперечували.

Шляхи передачі встановлено у 20(58,8%) хворих, а у 14(41,2%) – не встановлено. Із встановлених шляхів передачі найбільший відсоток склали парентеральні маніпуляції – у 7(20,6%) хворих, хірургічні втручання – у 6 (17,6%) хворих, стоматологічні втручання у 3 (8,8%), лікування в тубдиспансері та статеві контакти мали місце у 2(5,9%) та відповідно 2(5,9%) хворих. Дані шляхів інфікування представлені на Рис. 1.

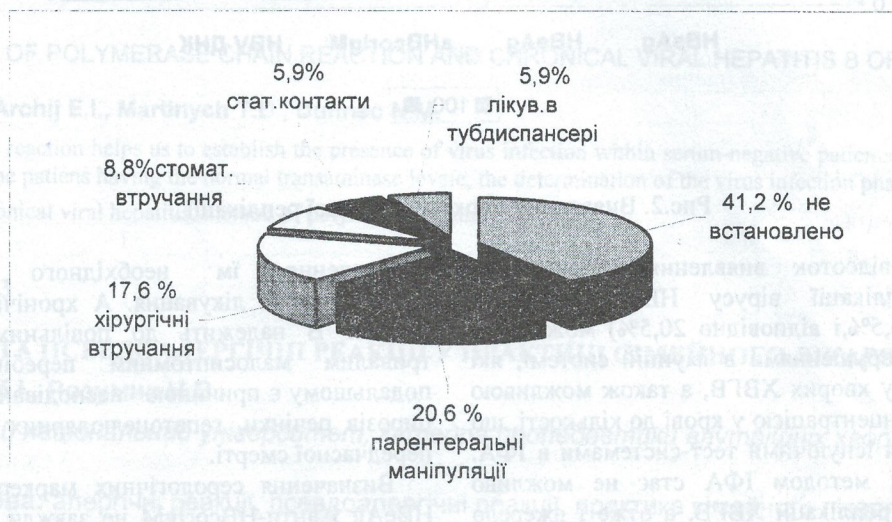


Рис. 1. Шляхи інфікування HBV

Із 34 хворих нечисельні скарги в більшості випадків спостерігались у 26 (76,4%) осіб. Вони проявлялись незначною загальною слабкістю, зниженням апетиту, астено-вегетативним синдромом. При УЗО гепатомегалію відмічали у 11 (32,4%) хворих, у 27(79,4%) хворих виявлена підвищена ехогенність печінки, у 10 (29,4%) – структура печінки дрібнозерниста, у 7 (20%) виявлена спленомегалія.

Функціональні проби печінки були змінені незначно. У 2 (5,9%) хворих рівень аланінамінотрансферази (АлАТ) був підвищений у 2 рази, у 12 (35,3%) хворих – у 1,5 раз, та у 20 (58,8%) хворих залишався нормальний.

При проведенні досліджень методом ПЛР HBV ДНК виявили у сироватці 19(58,9%) осіб, причому у 2 із них у цих же пробах HBs антиген був від’ємним. У 15 осіб HBV ДНК не виявили. При проведенні серологічних досліджень HBsAg було виявлено у 30(88,2%) осіб.

Разом з тим циркулювання HBsAg в сироватці крові критерієм оцінки реплікативної активності вірусу не являється. Навіть сама висока концентрація HBsAg при хронічній HBV-інфекції може відповідати його активній продукції в

гепатоцитах при відсутності реплікації HBV в цілому. Відповідно, високий рівень HBsAg реєструється не тільки при реплікативному, але і при інтегративному варіанті перебігу ХВГ.

Основним серологічним маркером при проведенні досліджень методом ІФА, що підтвержує розвиток реплікативного варіанту ХВГВ, є HBeAg. Ми виявили HBeAg тільки у 9(26,5%) осіб із 19 HBV ДНК“+”. Це, на нашу думку, може бути зумовлене закінченням реплікативної фази і інтеграцією вірусу в геном гепатоцита. Такий стан характеризується стабільним зникненням HBeAg і появою анти-HBe, однак іноді до сероконверсії спостерігається фаза “вікна”, коли в крові не виявляють ні HBeAg, ні антитіл до нього. Також можуть зустрічатися мутантні штами HBVe-, які не продукують HBeAg. Як свідчать отримані нами дані, при таких варіантах перебігу єдиним достовірним показником активності інфекційного процесу може бути тільки виявлення ДНК HBV. Цей висновок повністю корелює з даними літератури по цьому питанню [11].

При визначенні маркеру реплікації анти-HBcorIgM ми виявили його у 7 (20,5%) хворих із 19

HBV ДНК "+". Низький відсоток виявлення анти-HBcorIgM можна пояснити тим, що при хронічних формах ГВ, на відміну від гострих, циркуляція його в крові є недовготривалою. Саме у таких

хворих для виключення HBVe-варіанту важливе значення набуває метод PCR. Дані виявлення маркерів вірусної реплікації представлені на рис.2.

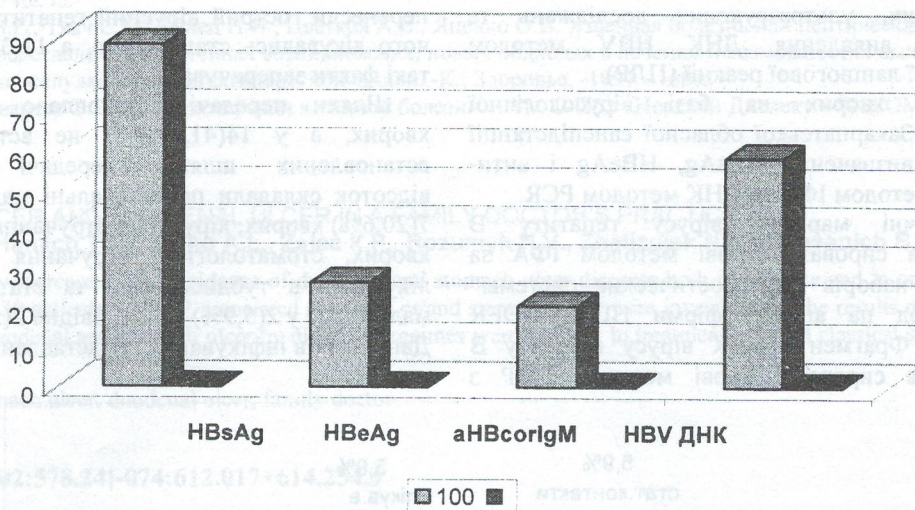


Рис.2. Виявлення маркерів вірусної реплікації

Низький відсоток виявлення серологічних маркерів реплікації вірусу HBeAg і анти-HBcorIgM (26,5%, і відповідно 20,5%) може бути зумовлений порушеннями в імунній системі, які відбуваються у хворих ХВГВ, а також можливою низькою їх концентрацією у крові до кількості, що не виявляється існуючими тест-системами в ІФА. Тільки одним методом ІФА стає не можливо виявити фазу реплікації ХВГВ, а отже і джерело інфекції.

Особливу увагу заслуговують ті носії, які мають маркери реплікації HBeAg, анти-HBcorIgM, HBV ДНК "+" оскільки відомо, що сироватка яка містить хоча б один із перерахованих маркерів, при недотриманні правил протиепідемічного режиму, представляє небезпеку зараження на багато порядків (10^6) вищу, ніж при контамінації крові вже після сероконверсії, та крові, що містить тільки HBsAg.

Тому саме для таких хворих, яких ми раніше називали "здоровими" носіями, зростає цінність ПЛР-діагностики, як єдиного методу, що дає можливість визначити інтегративний та реплікативний варіант перебігу ХВГ.

Персистування HBsAg на протязі 6 місяців і більше прийнято розглядати як "візитну картку" хронічного ГВ, та підтвердження нездатності організму ліквідувати інфекційний процес.

Проведені нами клініко-епідеміологічні, біохімічні та молекулярно-біологічні дослідження дають підставу ще раз підтвердити той факт, що носіїв HBsAg потрібно розглядати, як хворих на хронічний вірусний гепатит В у фазі інтеграції або реплікації. Вони можуть бути небезпечними у плані поширення інфекції і потребують

призначення їм необхідного додаткового обстеження та лікування. А хронічний вірусний гепатит В належить до повільних інфекцій з тривалим малосимптомним перебігом, що в подальшому є причиною "несподівано" виявлених цирозів печінки, гепатоцелюлярних карцином та передчасної смерті.

Визначення серологічних маркерів реплікації HBeAg і анти-HBcorIgM не завжди дають повне уявлення про фазу інфекційного процесу, не дозволяють контролювати перебіг хвороби і ефективність проведеної терапії. Тому великого значення набуває метод ПЛР, як найбільш надійний критерій підтвердження високої реплікативної активності збудника.

Висновки. 1. Активність АЛАТ та виявлення маркерів вірусної реплікації ХВГВ методом ІФА не завжди відтворюють активність патологічного процесу і не завжди корелюють з даними молекулярних досліджень.

2. Проведені нами дослідження показали, що за даними методу ІФА 26,5%, а за даними методу ПЛР- 58,8% носіїв HBsAg є реплікативними носіями, а при недотриманні протиепідемічного режиму і джерелом інфекції.

3. Метод ПЛР є найбільш надійним критерієм підтвердження реплікативної активності збудника інфекції у хворих на ХВГВ.

4. Враховуючи можливість періоду "біохімічного спокою" у носіїв HBs- антигену, програму контролювання перебігу хронічного вірусного гепатиту В необхідно розширювати за рахунок більш чутливого методу діагностики – полімеразної ланцюгової реакції.

ЛІТЕРАТУРА

1. Балаян М.С., Михайлов М.І. Енциклопедичний словник – вірусні гепатити. – Львів, ЛДМУ – 2000.-572 с.
2. Бобильова О.О., Бережнов С.П., Ситечко М.А., Падченко А.Г. Про епідемічну та сані-тарно-гігієнічну ситуацію в Україні в останні роки//Сучасні інфекції.- 2000.-№1.-С.4-6.
3. Гураль А.А. Марієвський В.Ф., Шагінян В.Р., Матошко Г.В. Актуальні питання епідеміології та профілактики гепатиту В в Україні. //Інфекційні хвороби.- 1996. – № 3. – С. 12-15.
4. Гураль А.Л., Марієвський В.Ф., Сергеева Т.А. Эпидемиологические аспекты проблемы гепатитов В и С в Украине //Збірник наукових праць співр КМАПО ім. Шупика.-Київ,2000.-Вип.9,кн.4.-С.56-59.
5. Майер К.-П. Гепатит и последствия гепатита.-М.:Гэотар Медицина.-1999.- 423 С.
6. Потьомкіна Г.О. Поширеність гепатитів В і С серед донорів України.// Вирусные гепатиты с парентеральным механизмом передачи возбудителей и их исходы.-Киев.-2001.- 351 С.
7. Шахгильдян И.В., Онищенко Г.Г., Хухлович П.А., и др. Итоги изучения и нерешенные вопросы эпидемиологии и профилактики парентеральных вирусных гепатитов в России.// Журнал микробиол..1994.- № 5.- С.26-32.
8. Шахгильдян И.В. Современная эпидемиологическая характеристика гепатитов В и С в Российской Федерации.//Вирусные гепатиты, достижения и перспективы:Информ. бюл.- 1999.-№3(7).-С.9-16.
9. Lemon S.M., Thomas D.L. Vaccines to prevent viral hepatitis. // N. Engl. J. Med.-1997.-Vol.336.- №3.- P. 196-205.
10. Mazusawa H., Uemoto S., Hijikata M.et al. Latent hepatitis B virus infection in healthi individuals with antibodies to hepatitis B cor antigen.//Hepatology.-2000.-№31.-P.488-495.
11. WHO. Control of viral hepatitis in Europe. Report of WHO Working Group,22-25 April 1991, Munich.

SUMMARY

THE METHOD OF POLYMERASE CHAIN REACTION AND CHRONICAL VIRAL HEPATITIS B OF FAMILY DOCTOR

Derbak M.A., Archij E.I., Martinych T.D., Dufinec N.M.

Polymeras chain reaction helps us to establish the presence of virus infection within serum-negative patients, the presence of virem:ia within the patiens having the normal transaminase levele, the determination of the virus infection phase.

Key words: chronical viral hepatitis, method of polymerase chain reaction

70-113