



УДК: 578.828 HW-06:616.36-0021-07

ДИАГНОСТИКА ВИРУСНОГО ГЕПАТИТА С У ВИЧ-ИНФИЦИРОВАННЫХ ЛИЦ КАЧЕСТВЕННЫМ МЕТОДОМ ПЦР ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ СГУСТКА КРОВИ

Л.Г. АИСТОВА
П.В. КАЛУЦКИЙ
В.Я. ПРОВОТОРОВ

*Курский государственный
медицинский университет*

e-mail: kurskmed@mail.ru

У ВИЧ-инфицированных пациентов часто встречается микст-инфекция, например, сочетание ВИЧ-инфекции и вирусного гепатита С. Вирусный гепатит С не всегда удаётся диагностировать на ранних сроках заболевания. В статье представлена методика диагностики вирусного гепатита С у ВИЧ-инфицированных пациентов с отрицательными показателями иммуноферментного анализа на антитела к гепатиту С, отрицательными результатами исследования сыворотки крови методом ПЦР на РНК гепатита С, без повышения печеночных трансаминаз. Из 95 обследуемых пациентов с диагнозом ВИЧ-инфекция у 7 в сгустке крови методом ПЦР обнаружена РНК HCV, у всех наблюдались низкие показатели вирусной нагрузки ВИЧ-инфекции и иммунорегуляторного индекса.

Ключевые слова: гепатит «С», ВИЧ-инфекция, иммунорегуляторный индекс, вирусная нагрузка ВИЧ.

Введение. Заболеваемость ВИЧ-инфекцией является актуальной проблемой, связанной с активным распространением данного заболевания. Так, по данным ВОЗ (2011 г.) ВИЧ-инфекция остается одной из наиболее значимых болезней современного мира. На конец 2011 года во всем мире зарегистрировано 34 миллиона ВИЧ-инфицированных. По оценкам ВОЗ, 0,8% людей в возрасте от 15 до 49 лет заражены ВИЧ-инфекцией. Ежегодно 2,7 млн. человек заражаются ВИЧ-инфекцией и 300 тысяч умирают от СПИДа [1, 2]. В настоящее время у ВИЧ-инфицированных лиц регистрируется повышение заболеваемости парентеральными вирусными гепатитами С [3].

Ко-инфекция ВИЧ+вирус гепатита С (HIV+HCV) широко распространена во всем мире. Это связано, в первую очередь, с общими путями передачи обеих инфекций. Основными группами риска для возникновения ко-инфекции являются инъекционные наркоманы [4, 5]. У многих пациентов гепатит С протекает в скрытой форме, переходя в хроническую [6]. Отличительной особенностью хронического вирусного гепатита С (ХВГС) является медленное развитие заболевания. ХВГС относится к группе вирусных инфекций с многолетним торпидным течением инфекционного процесса. Для него характерна определенная стадийность процесса – острая и латентная, которая может протекать до 15 лет с последующим быстрым прогрессированием и переходом в хронический вирусный гепатит [7]. Вирус гепатита С обладает слабой иммуногенностью, что определяет замедленный, неинтенсивный Т-клеточный и гуморальный ответ иммунной системы на внедрение инфекции, так как он подавляет хелперную и цитотоксическую активность Т-лимфоцитов, особенно у ВИЧ-инфицированных людей. [8]. Благодаря изменчивости генома внутри одного генотипа образуется большое количество мутантных вариантов вируса, которые замедляют ответ, и антитела-маркеры вирусного гепатита С определяются только на стадии хронического процесса [9]. Все это свидетельствует о необходимости разработки новых способов диагностики вирусного гепатита С, особенно у иммунокомпрометированных ВИЧ-инфицированных пациентов.

Цель исследования: оценка ранней диагностики вирусного гепатита С у ВИЧ-инфицированных лиц с отрицательными показателями иммуноферментного анализа (ИФА) и (ПЦР) в сыворотке крови на РНК вирусного гепатита С путем исследования сгустка крови качественным методом ПЦР на РНК вируса гепатита С.

Материалы и методы исследования. Исследование проводилось в «Курском областном центре по профилактике и борьбы со СПИДом и инфекционными заболеваниями» и «Курской областной клинической инфекционной больнице имени Н.А. Семашко». Сорока двум ВИЧ-инфицированным пациентам с диагнозом ВИЧ-инфекция стадия 4А назначалась антиретровирусная терапия (АРВТ) препаратами зидовудин, зальцитабин, абакавир, диданозин. Пятидесяти обследуемым с диагнозом ВИЧ-инфекция стадия 3 АРВТ не проводилась. У всех обследуемых определялась вирусная нагрузка ВИЧ-инфекции и иммунорегуляторный индекс (ИРИ), потому что они коррелируют с прогрессией данной инфекции, свидетельствуют о результативности терапии [10]. Так же оценивались печеночные трансаминазы.

У пациентов забиралась венозная кровь в стерильную пробирку путем венепункции. После ее отстаивания сыворотка крови отделялась. Далее исследованию подвергался сгусток кро-



ви качественным методом ПЦР с использованием комплекта реагентов для проведения реакции обратной транскрипции РНК вируса гепатита С (HCV): «МАГНО-сорб» Вариант 1000 «NucliSENS® easyMAG» («bioMérieux», Франция), фирмы «ИнтерЛабСервис». Подсчет CD4⁺- и CD8⁺-лимфоцитов производился на проточном цитофлуориметре BD FACSCoount Becton Dickinson Biosciences, США. Печеночные трансаминазы определяли по оптической плотности гидразонов 2-оксоглутаровой и пировиноградной кислоты в щелочной среде.

При статистической обработке данных использовался параметрический t-критерий Стьюдента, где статистически значимыми считались различия значений $p < 0,05$, и параметрический метод Пирсона.

Результаты исследования и их обсуждение. При исследовании сгустка крови качественным методом ПЦР из 95 обследуемых ВИЧ-инфицированных у 7 пациентов обнаружена РНК HCV, при этом у 4 из них наблюдалась низкая вирусная нагрузка ВИЧ-инфекции – менее 12 копий/мл. У 3 пациентов с 4Б стадией ВИЧ-инфекции, находящихся на антиретровирусной терапии, вирусная нагрузка ВИЧ составляла: 2,4 копий/мл, 5,4 копий/мл и 1,5 копий/мл соответственно. Уровень АЛТ у этих пациентов колебался в пределах 20-40 г/л, АСТ 18-36 г/л. В 7 случаях, с вероятностью 95%, в сгустке крови была обнаружена РНК гепатита С, а средний уровень вирусной нагрузки ВИЧ-инфекции в генеральной совокупности колебался от 7,18 до 9,18 копий/мл (рис. 1)

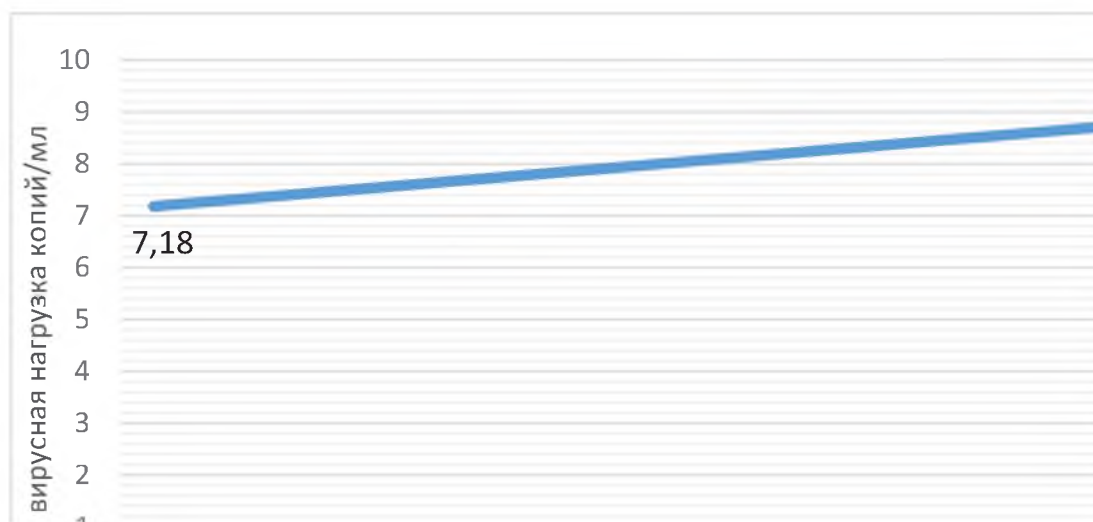


Рис. 1. Распределение показателей среднего уровня вирусной нагрузки ВИЧ у ВИЧ-инфицированных лиц, с положительной ПЦР на РНК HCV в сгустке крови

При аналогичной оценке результатов исследования достоверности по критерию Пирсона средний уровень вирусной нагрузки ВИЧ-инфекции в сгустке крови во всех случаях находился в пределах от 8,08 до 8,28 копий/мл (рис. 2).

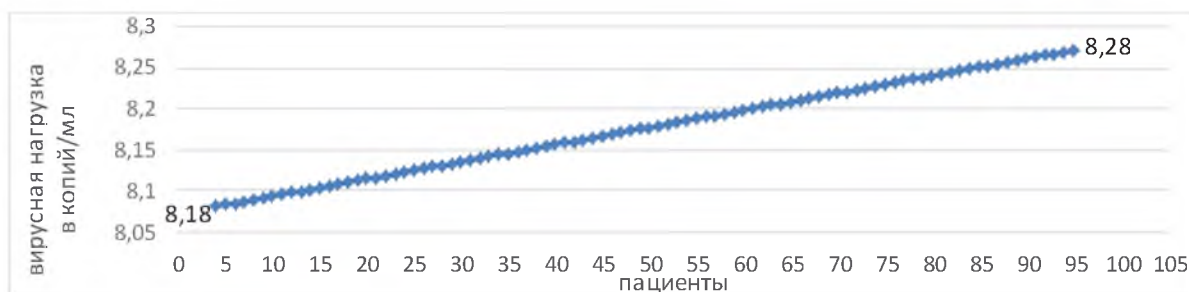


Рис. 2. Распределение показателей генеральной совокупности вирусной нагрузки ВИЧ-инфекции у ВИЧ-инфицированных лиц с положительной ПЦР на РНК HCV в сгустке крови

Из 7 пациентов с ВИЧ-инфекцией с положительными результатами на вирусный гепатит С иммунорегуляторный индекс в 3 случаях с диагнозом ВИЧ-инфекция стадия 4Б, получавших антиретровирусную терапию, находились в пределах от 0,36 до 0,40, а в 4 случаях у пациентов без антиретровирусной терапии с диагнозом ВИЧ-инфекции стадия 3 он колебался от 0,53 до 0,84. В генеральной совокупности показатели ИРИ находились в пределах от 0,58 до 0,62 (рис. 3)

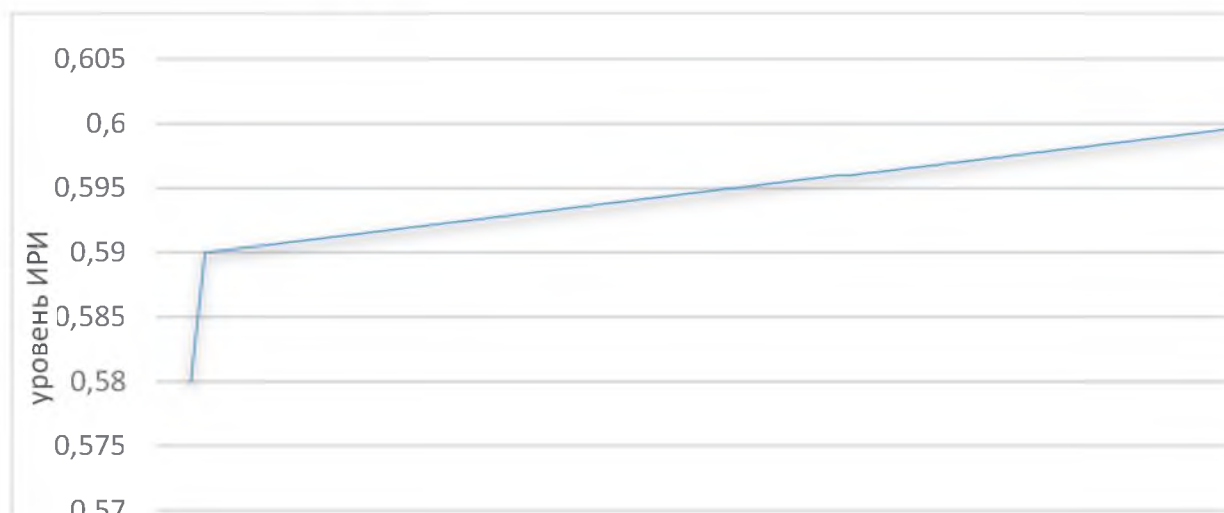


Рис. 3. Распределение показателей ИРИ у ВИЧ-инфицированных лиц с положительной РНК на HCV в сгустке крови

Таким образом, у 7 из 95 ВИЧ-инфицированных лиц, исследуя сыворотку крови стандартными методами ИФА и ПЦР на вирусный гепатит С и отрицательных результатах, в сгустке крови этих пациентов качественным методом ПЦР была обнаружена РНК гепатита С. При этом у 4 ВИЧ-инфицированных пациентов вирусная нагрузка была менее 12 копий/мл. У троих пациентов в стадии заболевания 4Б, находящихся на антиретровирусной терапии, вирусная нагрузка ВИЧ-инфекции колебалась от 1,5 копий/мл до 5,4 копий/мл, что в генеральной совокупности составило от 7,18 до 9,18 копий/мл, с вероятностью 95%. При аналогичной оценке вирусной нагрузки ВИЧ-инфекции, в этой группе пациентов используя параметрический метод Пирсона, вирусная нагрузка ВИЧ-инфекции была от 8,08 до 8,28 копий/мл. На фоне проведения антиретровирусной терапии у ВИЧ-инфицированных лиц, иммунорегуляторный индекс находился в пределах от 0,36 до 0,84, что в генеральной совокупности колебалось от 0,58 до 0,62. Несмотря на наличие вируса гепатита С в крови, уровень АЛТ у ВИЧ-инфицированных пациентов был в пределах от 20 до 40 г/л, а АСТ от 18 до 36 г/л, не отличаясь тем самым от показателей клинически здоровых людей.

Учитывая данные проведенных нами исследований можно сказать, что при отрицательных показателях ИФА и ПЦР на вирусный гепатит С в сыворотке крови у обследуемых ВИЧ-инфицированных лиц и обнаружение у них в сгустке крови качественным методом ПЦР РНК гепатита С, у всех пациентов отмечены достоверно низкие показатели иммунорегуляторного индекса и вирусной нагрузки ВИЧ-инфекции, что при нормальных показателях трансаминаз (АЛТ и АСТ) может указывать на латентное течение вирусного гепатита С. На показатели иммунного статуса и частоту обнаружения вирусного гепатита С в сгустке крови антиретровирусная терапия не влияет.

Литература

1. Антонова, Т. В. Вирусные гепатиты в вопросах и ответах: пособие для практикующих врачей / Т. В. Антонова, Д. А. Лиознов. — М.: ЛитТерра. — 2010. — 336 с.
2. Арямкина, О. Л. Острый и хронический вирусный гепатиты: распространенность, клиника, диагностика, лечение / О. Л. Арямкина, Е. С. Белозеров, Ю. И. Буланьков. — Ульяновск: УлГУ, 2009. — 117 с.
3. Анализ причин смертности больных опийной наркоманией / Бисалиев Р.Ф. [и др.] // Наркология. — 2010. — № 11. — С. 59-61.
4. Бобкова, М.Р. Возможные механизмы взаимного влияния инфекций, вызываемых ВИЧ и вирусом гепатита С / М.Р. Бобкова // ЖМЭИ. — 2008. — № 5. — С. 104-115.
5. Валентик, Ю. В. Профилактика ВИЧ/СПИД среди лиц, потребляющих наркотики / Ю. В. Валентик, Л. М. Савченко // Пособие для врачей. — Москва. — 2012. — С. 155-157.
6. Гусев, Д. А. Хронический гепатит С: течение, прогноз и лечение больных в военно-медицинских учреждениях: автореф. дисс. ... докт. мед. наук : 14.00.10 / Д.А. Гусев; СПб. Военно-мед. акад. им.С.М. Кирова. — СПб, 2007. — 46 с.
7. Покровский, В. И. Клиническая классификация ВИЧ-инфекции / В. И. Покровский, В. В. Покровский, О. Г. Юрин // Эпидемиология и инфекционные болезни. — 2011. — № 1. — С. 710.
8. Подымова, С. Д. Болезни печени. Руководство для врачей. — М.: Медицина, 2009. — 766 с.



9. Рабочая группа по оценке распространенности ВИЧ – инфекции в Европе. Скрытая ВИЧ-инфекция: методы и необходимые данные для оценки количества людей и недиагностированной ВИЧ-инфекцией // AIDS. – 2011. – Т. 4. – № 3. – С. 235-242.

10. Учайкин, В. Ф. Инфекционная гепатология: пособие для врачей / В. Ф. Учайкин, Т. В. Чердниченко, А. В. Смирнов. – М.: ГЕОТАР-МЕДИА. – 2012. – 220 с.

DIAGNOSIS OF HEPATITIS C IN HIV-INFECTED PEOPLE MEAN BY PCR USING A BLOOD CLOT

In HIV-infected patients frequently revealed mixed infection, for example, the combination of HIV and hepatitis C. Hepatitis C virus infection is not always possible to diagnose in the early stages of the disease. In the article presents a methodology for diagnostics of hepatitis C in HIV-infected patients with a negative index-linked immunosorbent assay for antibodies to hepatitis C, the negative results of the study of blood serum by PCR for RNA of hepatitis C without increasing hepatic transaminases. Out of 95 patients with the diagnosis of HIV infection is examined by PCR, in 7 of them in a blood clot is detected RNA HCV, and all of these patients had low levels of viral load of HIV infections and immunoregulatory index.

Key words: Hepatitis C of HIV infection, the immunoregulatory index, HIV viral load.

L.G. AISTOVA
P.V. KALUTSKY
V.Y. PROVOROTOV

Kursk State Medical University

e-mail: kurskmed@mail.ru