

**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ**

УТВЕРЖДАЮ

Первый заместитель министра

_____ Р.А. Часнойть

28 декабря 2007 г.

Регистрационный № 013-0407

**СПОСОБ ПРОГНОЗА ЭФФЕКТИВНОСТИ ИНТЕРФЕРОНО-
ТЕРАПИИ ХРОНИЧЕСКОГО ГЕПАТИТА С**

инструкция по применению

УЧРЕЖДЕНИЕ-РАЗРАБОТЧИК: УО «Гомельский государственный
медицинский университет»

АВТОРЫ: канд. мед. наук, доц. Е.Л. Красавцев, д-р мед. наук, проф. С.В.
Жаворонок, канд. мед. наук, доц. В.М. Мицура

Минск 2008

Хронический гепатит С (ХГС) представляет собой одну из важнейших проблем современного здравоохранения в связи с частотой распространения, неуклонным ростом заболеваемости, высоким риском трансформации в цирроз печени и развития гепатоцеллюлярной карциномы. Примерно 1% населения Республики Беларусь инфицированы вирусом гепатита С (HCV), что составляет около 100 000 человек, из которых приблизительно 10% имеют манифестные формы инфекции.

Как известно, геном HCV кодирует структурные (С, Е1, Е2) и неструктурные (NS2, NS3, NS4, NS5) белки. К каждому из этих белков вырабатываются антитела, циркулирующие в крови. Однако специфический гуморальный иммунный ответ при HCV-инфекции не является протективным.

В крови больных хроническим гепатитом С (ХГС) закономерно обнаруживаются антитела к core-белку и неструктурным протеинам. Чаще всего при ХГС выявляются антитела к NS4 (anti-NS4). Предполагается, что титры антител к NS5 могут отражать эффективность терапии препаратами α -интерферона (α -ИФН), причем их повышенные титры характерны для лиц, не отвечающих на терапию α -ИФН.

Антитела к HCV класса IgM (anti-HCV IgM) свидетельствуют об активной репликации вируса и выявляются при ХГС в фазу реактивации. Однако anti-HCV IgM могут предшествовать повышению АЛТ. Известно, что антитела к неструктурным белкам HCV и anti-HCV IgM обнаруживаются гораздо реже у больных ХГС в стадии ремиссии, чем при повышенной активности ХГС. Считается, что выявление anti-HCV IgM может отражать уровень виремии и активность ХГС. Исчезновение антител к core белку, NS4 и NS5 в динамике может являться признаком, указывающим на формирование клинко-биохимической ремиссии. В ряде исследовательских работ показано, что наличие специфических иммуноглобулинов М (IgM) к белку core HCV можно считать маркером острого процесса.

Мононуклеарные клетки крови, выделенные от больных ХГС, способны продуцировать антитела к HCV классов IgM и IgG, как показано в исследовании *in vitro*. При этом выявлена прямая связь между продукцией антител и активностью ХГС (биохимической и гистологической). В этом же исследовании показано влияние продукции антител (в том числе IgM) на эффективность интерферонотерапии: у 7 из 8 неответчиков антитела продуцировались тогда, как у 8 из 10 ответивших на терапию не вырабатывались. В другом исследовании выявлена прямая корреляция anti-HCV IgM с виремией и активностью заболевания при ХГС, а также зависимость ответа на интерферонотерапию от уровня антител класса IgM (у ответивших на терапию титры антител до лечения и в его процессе были ниже)

В настоящее время основным способом этиотропного лечения ХГС с доказанной эффективностью является применение препаратов α -интерферона. Препараты α -ИФН обладают противовирусной и в меньшей степени иммуномодулирующей способностью. К сожалению, стабильные

положительные результаты интерферонотерапии удается достичь лишь у 25% больных ХГС. Применение комбинированной терапии с рибавирином повышает эффективность лечения до 30-40%, при этом возрастает число побочных эффектов терапии и увеличивается его стоимость. Наличие высокой вирусной репликации и вирусной нагрузки является неблагоприятным прогностическим признаком ответа на интерферонотерапию. Для выбора стратегии и анализа эффективности терапии ХГС необходимо исследовать иммунный статус организма перед назначением ИФН и в процессе терапии. Показано, что частота вирусологического ответа на ИФН выше у пациентов с нормальным исходным состоянием системы иммунитета. Предлагаемый способ прогнозирования эффективности интерферонотерапии по определению анти-HCV IgM и anti-NS5 позволяет использовать более дешевый метод иммуноферментного анализа по сравнению с дорогостоящими методами вирусологического анализа (ПЦР).

При наличии признаков отсутствия ответа после 3-месячного курса интерферонотерапии (к ним, прежде всего, относятся повышенный уровень АЛТ и обнаружение РНК HCV в сыворотке крови больного) продолжение лечения прежнем режиме нецелесообразно. Раннее определение неэффективности терапии предложенным способом позволит экономить дорогостоящие лекарственные средства.

ПЕРЕЧЕНЬ НЕОБХОДИМОГО ОБОРУДОВАНИЯ, РЕАКТИВОВ, ПРЕПАРАТОВ, ИЗДЕЛИЙ МЕДИЦИНСКОЙ ТЕХНИКИ

Для проведения иммуноферментного анализа (ИФА) необходимы следующие реагенты: бычий сывороточный альбумин; конъюгат, содержащий антитела против иммуноглобулинов G человека, меченные пероксидазой хрена; фосфатно-солевой буферный раствор с твином (0,01 моль/л, рН 7,2, содержащий 0,145 моль/л NaCl и 1 г/л Tween 80 – ФСРТ); хромоген – тетраметилбензидин (ТМБ); субстратный буферный раствор, содержащий перекись водорода, 3 г/л, цитратный буферный раствор, 0,1 моль/л (СБ); стоп-реагент – серная кислота с концентрацией 1 моль/л; одно- и многоканальные пипетки; одноразовые наконечники, плоскодонные 96-луночные полистирольные планшеты; термостат; вортекс; вертикальный фотометр типа АИФ М/340; лабораторная посуда. Используются иммуноферментные тест-системы различных производителей для определения антител к HCV класса IgM и антител к NS5 белку HCV.

ПОКАЗАНИЯ К ПРИМЕНЕНИЮ

Больные хроническим вирусным гепатитом С обследуются перед назначением интерферонотерапии, в динамике ее проведения (каждые 3 мес.), при невозможности определить РНК вируса гепатита С (HCV) методом полимеразной цепной реакции (ПЦР).

ПРОТИВОПОКАЗАНИЯ ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ

Отсутствуют.

ОПИСАНИЕ ТЕХНОЛОГИИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ СПОСОБА

Антитела к HCV класса IgM и антитела к NS5 белку HCV определяются методом иммуноферментного анализа в сыворотках крови больных хроническим гепатитом С (реакция качественная). Анализ проводится в любой лаборатории РБ, имеющей иммуноферментный анализатор типа АИФ-М/340 или аналогичный зарубежного производства. Учет результатов ИФА производится согласно инструкции к тест-системе. При отсутствии anti-HCV IgM и anti-NS5 у больных хроническим гепатитом С прогнозируется вирусологический ответ на терапию препаратами α -ИФН к концу курса лечения (12 месяцев), появление anti-HCV IgM во время лечения свидетельствует о вирусологическом не-ответе к концу курса терапии препаратами α -ИФН.

ПЕРЕЧЕНЬ ВОЗМОЖНЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ ИЛИ ОШИБОК ПРИ ВЫПОЛНЕНИИ И ПУТИ ИХ УСТРАНЕНИЯ

На этапе проведения иммуноферментного анализа возможно наличие различных проблем, возникающих при проведении любого ИФА – повышение фоновой окраски, слабое развитие окраски, низкая воспроизводимость результатов. Для недопущения погрешностей анализ должен проводиться квалифицированными специалистами в иммунологической лаборатории со строгим соблюдением температурных и временных режимов согласно инструкции. Все реагенты для иммуноферментного анализа необходимо хранить в холодильнике при 4°C не допуская их замораживания; перед проведением ИФА реактивы необходимо выдержать при комнатной температуре в течение 30 мин. Рекомендуется анализировать все сыворотки в дублях, повторное замораживание-размораживание сывороток не допускается.