**Курсовая работа**

**на тему:**

«Методическое обеспечение лабораторной диагностики вирусного гепатита В»

**Введение**

Вирусные гепатиты (ВГ) являются одной из самых актуальных проблем современной медицины. Это определяется как их повсеместным распространением, так и высоким уровнем заболеваемости. Согласно расчетным данным ВОЗ, отмечался рост удельного веса ВГ среди других инфекционных заболеваний, увеличение числа тяжелых форм и отчетливая тенденция к росту затяжных форм, в связи чем это заболевание было и остается одной из ведущих проблем инфекционной патологии.

Многолетние наблюдения и результаты эпидемиологических исследований показывают, что ВГ отличается высоким диапазоном клинического течения. Наряду с типичной картиной нередко встречаются его безжелтушные, стертые и атипичные формы, что затрудняет диагностику. Специальными вирусологическими, биохимическими и морфологическими исследованиями установлено широкое распространение субклинических (бессимптомных) форм заболевания и вирусоносительства. Кроме того, даже ВГ с типичной клинической картиной за редким исключением диагностируется слишком поздно, лишь после появления желтушного окрашивания кожных покровов и слизистых оболочек.

Таким образом, больные в течении преджелтушного периода болезни остаются не изолированными. А именно в этот период они являются наиболее опасными для окружающих. После появления желтухи заразительность больных резко снижается. Установлено, что поздняя госпитализация и поздно начатое лечении отягощают течение заболевания, способствуют затяжному, рецидивирующему его течению и развитию неблагоприятных последствий. Последние десятилетие характеризовалось новейшими достижениями в молекулярной биологии, вирусологии, генной инженерии, что позволило открыть новые гепатотропные вирусы, более детально изучить патогенез, значительно усовершенствовать систему диагностики и разработать новые подходы к противовирусной терапии и специфической профилактике вирусных гепатитов.

# **1. Литературный обзор**

# **.1 Вирусные гепатиты и их возбудители**

# **Вирусные гепатиты (ВГ)** - группа инфекционных заболеваний человека, вызываемая вирусами, разными по своей природе, путям их передачи от больного (или инфицированного) к здоровому и имеющая один общий признак - поражение печени. ВГ являются антропонозными инфекциями, т.е. их возбудители в естественных условиях могут существовать только в организме человека. Несмотря на то, что инфекционные гепатиты были известны очень давно, вызывающие их вирусы были открыты относительно недавно.

# На сегодняшний день известно 8 вирусов: вирус А вызывает ВГА (открыт в 1973 г.), вирус В-ВГВ (открыт в 1970 г.), вирус С - ВГС (открыт в 1988), вирус D - ВГD (открыт в 1977 г.), вирус Е - ВГЕ (открыт в 1983).

# Пристально изучаются недавно открытые вирусы - вирус G (1996), TTV (1997), SEN (1999), вызывающие соответствующие гепатиты. Как считают исследователи, «вирусный алфавит» еще не исчерпан и возможны открытия новых возбудителей. Вначале были изучены вирусы гепатитов А и В. Поэтому долгое время все другие гепатиты, возбудители которых были мало известны или вообще неизвестны, обозначались термином «гепатиты ни - А, ни - В», т.е. вирусные гепатиты неустановленной природы. В настоящее время из группы «гепатитов ни - А, ни - В» уже получили полную самостоятельность вирусы гепатитов C, D, E. Сведения о других вирусах и вызываемых ими гепатитах продолжают накапливаться.

# Термин «гепатит» означает воспаление печени. Гепатиты как самостоятельные заболевания дифференцируют в зависимости от причин, которые его вызывают: вирус ведет к развитию вирусных гепатитов, алкоголь - алкогольных, лекарства - лекарственных, химические яды - токсических гепатитов и др.

# При ВГ возбудители имеют избирательное сродство (тропизм) к клеткам печени. Поэтому первичная локализация вирусов и их репликация (размножение) происходят преимущественно в ткани печени, в первую очередь в печеночных клетках (гепатоцитах).

# По характеру и длительности течения ВГ делятся на острые и хронические. Границей между этими двумя формами болезни условно принимается срок в 6 месяцев с начала болезни или у некоторых лиц с момента заражения (если не возникает заболевание) и до 6 месяцев - острый ВГ или острое носительство вируса, после 6 месяцев - хронический гепатит или хроническое вирусоносительство.

# Вирусные гепатиты А и Е не имеют хронических форм болезни или хронического вирусоносительства.

# Острая форма или острое носительство гепатитов, вызываемых вирусами B, C, D, может переходить в хроническую форму или хроническое вирусоносительство.

# Есть еще одна принципиальная разница между гепатитами А, Е и другими перечисленными выше гепатитами - отличие в путях передачи. Заражение вирусным гепатитом А (ВГА) и вирусным гепатитом Е (ВГЕ) происходит через рот (фекально-оральный путь), как при любых кишечных инфекциях. Здоровые лица инфицируются через бытовые контакты, пищевые продукты, предметы обихода, питьевую воду и т.д., в которые тем или иным путем попадают вирусы гепатитов А и Е. При гепатитах, вызываемых вирусами B, C и D, проникновение возбудителей в организм происходит преимущественно парентеральным путем, минуя желудочно-кишечный тракт (ЖКТ): при инъекциях, при введении крови и кровезамещающих растворов, половых контактах, а также при передачи инфекции от матери к плоду. В этих случаях главным фактором заражения служит кровь и связанные с ней жидкости организма (слюна, сперма и др.), содержащие вирус. Их называют, помимо парентеральных гепатитов, также сывороточными, шприцевыми.

# Таким образом, вирусный гепатит В (ВГВ), вирусный гепатит С (ВГС), вирусный гепатит D (ВГ D) имеют, в отличие от ВГА и ВГЕ, преимущественно кровеконтактный путь передачи инфекции и могут из острой формы и острого носительства вируса переходить у части больных к хроническому течению или хроническому вирусоносительству.

# ВГ - серьезная проблема и не менее актуальная, чем ВИЧ/СПИД- инфекция, поэтому Всемирная Организация Здравоохранения считает ее вопросом здоровья всего мира.

# **.2 Функции печени и их недостаточность при гепатитах**

# **Печень** - крупная железа животного организма, участвующая в процессах пищеварения, обмена веществ, кровообращения и осуществляющая специфические защитные и обезвреживающие, ферментативные и выделительные функции, направленные на поддержание постоянства внутренней среды организма.

# Основными «рабочими» клетками печени являются гепатоциты, которые составляют приблизительно 60% от веса печени. Продолжительность жизни гепатоцитов - 150 дней. Будучи очень активными клетками, они осуществляют множество функций, обеспечивая многогранную деятельность печени.

# Физиологическое значение печени определяется тем, что всасываемые из кишечника в кровь вещества проходят через печень и подвергаются в ней химическим изменением. Печень участвует в поддержании динамического равновесия многих веществ плазмы крови (глюкозы, холестерина, белков крови, железа, ретинола, или витамина А, воды). Через печень протекает в 1 мин около 1,5 л крови, в ней освобождается ⅛ часть всей энергии организма. Печень инактивирует многие гормоны: тироксин, эстрогены, гонадотропные гормоны, стероиды коры надпочечников, серотонин и др. Печень обладает желчеобразовательной функцией. Желчь, синтезируемая в клетках печени и веществ, поступающих с кровью, имеет важное значение для процессов пищеварения и жирового обмена в организме. В желчи содержатся соединения, необходимые для обмена веществ и переработки пищи: калий, кальций, магний, железо и другие неорганические вещества. Главные же компоненты желчи - желчные пигменты (билирубин и его производные), желчные кислоты и их соли, жирные кислоты, а также холестерин. Сам по себе холестерин - совершенно необходимый для организма продукт. Он содержится в стенках (мембранах) клеток, участвует в синтезе гормонов, является предшественником желчных кислот, принимающих активное участие вместе с желчью во всасывании пищи из ЖКТ, особенно жиров. Холестерин образуется в печени, тонком кишечнике и некоторых других органах. В обмене холестерина печень играет существенную роль. Не менее важная функция печени - депонирование крови. Сосуды печени могу вмещать 20% всей крови, поэтому задержка крови в нормальной здоровой печени не представляет собой венозного застоя. От ее функционального состояния зависит деятельность других депонирующих кровь органов (селезенки, кишечника). Вся кровь, вышедшая из селезенки и кишечника, обязательно проходит через печень. Здесь удаляется избыток воды из крови, которая идет на создание лимфы и желчи. В печени образуется от ½ до ⅓ всей лимфы с большим содержанием белка (6%).

печень гепатит вирусный недостаточность

# **1.2.1 Белково-синтетическая функция печени**

Печень играет важную роль в обмене белков. Наибольшее количество белка синтезируется в мышцах, однако в пересчете на 1 г массы в печени их производится больше. Здесь образуются не только собственные белки гепатоцитов, но и большое количество секретируемых белков, необходимых для нужд организма в целом. Печень является единственным органом, который в больших количествах поставляет в кровь белки. За исключением иммуноглобулинов, синтезируемых лимфоцитами, в печени образуются все белки плазмы крови. К важнейшим из них относятся: белки свёртывающей системы крови (протромбин, фибриноген, факторы свёртывания V, VII, IX, X, XI, XII), альбумины, глобулины, ферменты (липопротеинлипаза, холинэстераза, псевдохолинэстераза). Альбумин играет важную роль в поддержании онкотического давления крови. Кроме того, он необходим для связывания и транспортировки многих веществ, в том числе некоторых гормонов, жирных кислот, микроэлементоа, триптофана, билирубина, многих эндогенных и экзогенных органических анионов. Однако при редком врожденном нарушении - анальбуминемии не возникает тяжелых физиологических изменений, кроме избыточного накопления жидкости в тканях. Наконец, на метаболизм белков в печени влияют такие гормоны, глюкагон и инсулин. В печени образуются и другие секретируемые белки. Синтез и процессинг большинства из них проходит так же, как и альбумина. Многие белки в шероховатом эндоплазматическом ретикулуме или в аппарате Гольджи гликолизируется, превращаясь в гликопротеиды; захват их в последующем тканями и связывание с рецепторами зависят от углеводного остатка. К клинически значимым секретируемым гликопротеидами относятся церулоплазмин, альфа1-антитрипсин и большинство других альфа-глобулинов и бета-глобулинов. Распад гликопротеидов происходит следующим образом: концевые остатки сиаловых кислот отщепляются, и в результате обнажаются остатки галактозы или N-ацетилглюкозамина, которые связываются с рецепторами гепатоцитов и купферовских клеток и обеспечивают захват и последующее разрушение «состарившихся» белков. При хронических и тяжелых острых болезнях печени снижение количество рецепторов гепатоцитов к асиалогликопротеидов ведет к повышению концентрации гликопротеидов в сыворотке.

# **.2.2 Роль печени в пигментном обмене**

В пигментном обмене печень выполняет следующие функции:

) образование билирубина;

) захват, конъюгация и экскреция билирубина;

) метаболизм уробилиногенов.

**Билирубин**- продукт распада гемоглобина, миоглобина и цитохромов. Распад гемоглобина в основном происходит в клетках системы мононуклеарных фагоцитов (СМФ), в частности, в купферовских клетках печени, селезенки. Начальным этапом распада гемоглобина является разрыв одного метинового мостика протопорфиринового кольца и переход атома железа из двухвалентного состояния в трехвалентное. При этом образуется соединение, окрашенное в зеленый цвет, которое называется **вердоглобин.** В дальнейшем от молекулы вердоглобина отщепляется атом железа и белок глобин. Образуется соединение - **биливердин**, которое представляет собой цепочку из четырех колец, связанных метиновыми мостиками. Биливердин восстанавливается, присоединяя атомы водорода по месту свободных двойных связей у атома углерода и азота третьего пирольного кольца и образуется собственно **билирубин**.Это вещество красно - коричневого цвета, не растворимое в воде, очень токсичное для организма, особенно для нервных клеток. **Химическая формула - C33H36O6N4.** Билирубин является одним из основных компонентов желчи. Билирубин, который образуется в клетках СМФ на периферии, связывается с белком плазмы крови - альбумином и током крови доставляется в печень. Эта транспортная функция альбумина по отношению к билирубину очень существенна для удаления билирубина из тканей. Любые процессы, связанные с понижением концентрации альбумина в крови, ведут к нарушению доставки билирубина в печень и накоплению его в тканях и в крови. Связь билирубина с альбумином не снижает его токсичность, а лишь обеспечивает транспорт билирубина в крови. Такая форма билирубина называется **свободным билирубином, неконьюгированным, непрямым билирубином.** Эта фракция билирубина не вступает в непосредственное взаимодействие с диазореактивом. Он практически нерастворим в воде, липофилен и потому легко растворяется в липидах мембран, проникая в мембраны митохондрий, нарушая метаболические процессы в клетках. Такой билирубин очень токсичен.

Поступая в печень, свободный билирубин избирательно поглощается гепатоцитами из крови, теряет связь с альбумином и взаимодействует (конъюгирует) с глюкуроновой кислотой с образованием **билирубинглюкуронидов.** Этот процесс происходит в гладких мембранах эндоплазматического ретикулума гепатоцитов при участии фермента УДФ-глюкоронилтрансфераза. Конъюгацией обеспечивается перевод нерастворимого билирубина в растворимое состояние, что способствует выделению билирубина в составе желчи в кишечник. Лишь незначительная часть билирубинглюкуронида реэкскретируется в кровь, где составляет не более 25% от общего количества билирубина. В норме билирубинглюкуронид является той формой билирубина, которая постоянно из организма. Билирубинглюкуронид называется **связанным билирубином, конъюгированным, или прямым билирубином.** Он водорастворимый, менее токсичный, взаимодействует с диазореактивом.

**Нормальные величины билирубина**:

общий - 8,55 - 20,52 мкмоль/л;

прямой - 25% от общего.

# При вирусном гепатите нарушается билирубинвыделительная функция. В результате чего отмечается повышение содержания в крови как свободного, так и связанного билирубина. Причем, нарушение этой функции является ведущим фактором развития желтухи при вирусном гепатите, вследствие чего в крови у больного отмечается преимущественное увеличение прямого (связанного) билирубина. Желчные пигменты, циркулируя в кровяном русле, откладываются в коже и подкожной клетчатке, окрашивая ее в желтый цвет, а выделяясь с мочой придают ей темный цвет.

# **1.2.3 Параметры функционального состояния печени**

# **Ферменты, или энзимы** - это соединения белковой природы, обладающие специфическими свойствами катализировать различные превращения веществ в живом организме. Ферменты, как и белки по химической структуре подразделяются на две группы:

# 1. Простые или однокомпонентные ферменты, которые состоят только из белка. В качестве примера таких ферментов можно назвать альдолазу, трипсин.

# 2. Сложные или двухкомпонентные ферменты. Их принято обозначать также термином **холофермент**. Состоят из белковой части - апофермента и небелковой части - кофермента. В роли кофермента могут выступать остатки кислот, витамины, металлы, НАД. Апофермент определяет скорость и специфичность, а кофермент - тип химической реакции, катализируемой холоферментом. Примером сложных ферментов могут служить аминотрансферазы, лактатдегидрогеназа.

# Согласно действующей классификации ферменты делят на шесть главных классов:

# . **Оксидоредуктазы.** Сюда относят ферменты, катализирующие биологические окислительно-восстановительные реакции. Например, лактатдегидрогеназа, каталаза, пероксидаза.

# . **Трансферазы.** Это ферменты, катализирующие реакции внутри- и межмолекулярного переноса различных атомов и химических группировок. Например, аминотрансферазы, гамма-глутамилтранспептидаза.

# . **Гидролазы.** Сюда вошли ферменты, катализирующие расщепление внутримолекулярных связей органических веществ при участии молекулы воды. Например, щелочная и кислая фосфотазы.

# . **Лиазы.** Ферменты катализа обратимых реакций отщепления различных групп от субстратов не гидролитическим путем. Например, декарбоксилазы, обеспечивающие процесс декарбоксилирования аминокислот.

# . **Изомеразы.** Ферменты, катализирующие реакции изомеризации. Например, рацемазы, действующие амино- и кетокислоты.

# . **Лигазы.** В этом классе объеденины, катализирующие синтез органических веществ из двух исходных молекул с использованием энергии АТФ. Например, глутамат-аммиак-лигаза, при участии которой синтезируется глутамин из глутаминовой кислоты, аммиака и энергии АТФ.

# Ферменты, как правило, локализируются внутри клеток, где и проявляют свое действие. Исключения составляют ферменты желудочно-кишечного тракта. Внутриклеточные ферменты встраиваются в различные клеточные органеллы: ядро, эндоплазматический ретикулум, рибосомы, митохондрии, лизосомы, цитоплазму, клеточные мембраны. В ядре клетки локализуются ферменты, участвующие в процессе передачи наследственной информации; в рибосомах - ферменты, участвующие в реакциях биосинтеза белка; в лизосомах концентрируются протеолитические ферменты, обеспечивающие переваривание инородных частиц, попадающих в клетку, а также самопереваривание клетки при ее старении. В митохондриях локализуется окислительно-восстановительные ферменты цикла Кребса, цитохромоксидаза, ферменты окислительного фосфорилирования и распада жирных кислот. В цитоплазме концентрируются ферменты гликолиза, ферменты биосинтеза жирных кислот. В клеточной мембране находятся ферменты, катализирующие процессы транспорта различных веществ через мембрану.

# В патологии, при повреждении клеточных структур, в результате воспалительного процесса, когда нарушается нормальная проницаемость клеточных мембран, или за счет некроза клеток, происходит усиленный выход в кровь клеточных ферментов. Вследствие этого в крови определяется повышенная их активность.

# В диагностике вирусного гепатита В используют определение активности аминотрансфераз, в частности активности аспартатаминотрансферазы и аланинаминотрансферазы.

# **Аспартатаминотрансфераза** (АсАТ) - это митохондриальный ермент, присутствующий в больших количествах в сердце, печени, скелетной мускулатуру и почках. Активность этого фермента проявляется при любом остром повреждении тканей, вследствие его выхода из поврежденных клеток

# **Аланинаминотрансфераза** (АлАТ) - цитоплазматический фермент, также присутствующий в клетках печени. Абсолютное количество этого фермента меньше, чем АсАТ. При этом в печени его содержатся больше, чем в миокарде и в скелетных мышцах. Повышенная активность аминотрансфераз с преобладанием активности АлАТ над АсАТ служит одним из достоверных лабораторных тестов в диагностике гепатитов. Но изменение соотношения повышенной активности этих ферментов. Когда над АлАТ начинает преобладать АсАТ, является грозным сигналом осложнения гепатита, возможности перехода в цирроз печени. Такие характерные изменения активности аминотрансфераз объясняются разным уровнем локализации ферментов в гепатоците: АлАТ, в основном, концентрируется в цитоплазме, а АсАТ большей частью находится в митохондриях, т.е. значительно глубже упакована в клетке, чем АлАТ. Поэтому при воспалении гепатоцита и нарушении нормальной проницаемости его мембраны, прежде всего, в крови увеличивается содержание АлАТ и она преобладает над АсАТ. Таким образом, по сравнению с АсАТ повышение активности сывороточной АлАТ более специфично для поражения печени.Определениеактивности аминотрансфераз играет важную роль в ранней диагностике вирусного гепатита.

# **2. Классификация вирусных гепатитов**

# **Вирусные гепатиты** - группа антропонозных вирусных заболеваний с различным механизмом передачи и особенностями патогенеза, объеденных гепатотропностью возбудителей и обусловленным этим сходством клинических проявлений (желтуха, интоксикация, гепатоспленомегалия).

# В настоящие время уже доказано существование семи относящихся к различным группам вирусов, которые являются возбудителями одноименных вирусных гепатитов:

# • вирус гепатита А - HAV;

# • вирус гепатита В - HBV;

# • вирус гепатита С - HCV;

# • вирус гепатита D - HDV;

# • вирус гепатита Е - HEV;

# • вирус гепатита F - HFV;

# • вирус гепатита G - HGV;

# Как полагают, этим списком далеко еще не исчерпываются все возбудители ВГ.

# **.1 Вирусный гепатит А**

# **Вирусный гепатит А (ВГА)** - это заболевание представляет собой острое воспаление печени, вызываемое РНК-содержащим вирусом, передающимся энтеральным путем, обычно заканчивающееся самоизлечением.

# ВГА, как инфекция, встречается повсеместно. Частота заболевания варьирует в очень широких пределах. Основным путем передачи инфекции является фекально-оральный. Заражение человека ВГА происходит через рот при потреблении контаминированной воды или пищи, у детей кроме того от попадающих в рот предметов (игрушек) и грязных рук. Половой путь передачи вируса гепатита А возможен, но встречается очень редко; его рассматривают как анально-оральный. Передача вируса гепатита А в отделениях гемодиализа считается не характерной. Основную опасность заболевания ВГА представляют плохие гигиенические условия, делающие возможной передачу вируса от инфицированного к здоровому человеку фекально-оральным путем. Возможность воздушно-капельного механизма передачи вируса в настоящие время отрицается. Передача HAV от матери плоду трансплацентарно практически всеми исследователями исключается из-за невозможности вируса преодолеть трансплацентарный барьер. ВГА имеет широкий диапазон клинических проявлений. Он может протекать с клиническими проявлениями болезни (желтушный и безжелтушный вариант) и без клинических проявлений (инаппаратный вариант). При безжелтушном варианте присутствуют все биохимические и клинические признаки ВГА, кроме желтухи и гипербилирубинемии; активность аминотрансфераз повышена. При инаппаратном (субклиническом) варианте отсутствуют все клинические проявления, но выявляется повышенная активность аминотрансфераз.

# При течении ВГА с клиническими проявлениями определяется цикличность с последовательной сменой четырех периодов: инкубационного, продромального, разгара (желтушного), реконвалисценции. Первоначальная клиническая диагностика становится трудной при безжелтушных формах заболевания.

# Специфической терапии заболевания не существует. Пассивная иммунопрофилактика, проведенная до контакта с инфекцией, оказывается эффективной почти во всех случаях. Иммунопрофилактика проведенная после контакта с инфекцией дает эффект более чем 80% случаев. Хронические формы заболевания не развиваются. Заболевание обычно оканчивается полным выздоровлением и оставляет стойкий иммунитет.

# **2.2 Вирусный гепатит С**

# **Вирусный гепатит С (ВГС)** - анторопонозное вирусное заболевание печени, вызванное однонитчатым РНК-содержащим вирусом. Вирус гепатита С проникает в печень, он вторгается в ее клетки и начинает размножаться. В результате всего этого все большее количество клеток замещается фиброзной тканью. Симптомы болезни не проявляются до тех пор, пока не наступит такое повреждение печени, при котором нарушаются все ее функции. Этот период может длиться от 10 до 40 лет в зависимости от скорости прогрессирования болезни.

# ВГС передается через контакт с кровью больного ВГС человека.

# **Способы заражения ВГС:**

# пользование одними иглами и шприцами с больным ВГС (при внутривенном введении наркотиков);

# повторное или многократное использование игл в медицинской практике;

# серьезные хирургические операции;

# передача половым путем, риск заразиться ВГС через сексуальный контакт в постоянного партнера не превышает 3-6%;

# перинатальный (или вертикальный) путь передачи ВГС от инфицированной матери к ребенку;

# переливание крови или ее продуктов;

# заражение при нанесении татуировок, прокалывании тела (пирсинг);

# инструментальные манипуляции при посещении стоматолога.

ВГС начинается очень постепенно, часто без четко выраженного преджелтушного периода. Протекает преимущественно в виде легких форм, тем не менее, в большинстве случаев становится хроническим (эта особенность послужила основанием для того, чтобы ВГС называть «ласковый убийца»). На фоне «легкого течения» у больных могут выявляться значительно увеличенные печень и селезёнка, не соответствующие по своим размерам и плотности ни тяжести течения, ни остроте процесса. HCV-инфекция иногда распознается лишь тогда, когда у больного уже сформировался цирроз печени. Заболевание нередко протекает с периодическими ферментативными обострениями, которые обычно не распознаются клинически.

Острые гепатиты в большинстве случаев протекают легко. При печеночно-клеточной недостаточности появляется склонность к кровоизлияниям и кровотечениям, а также сонливость, прогрессирует желтуха. Большинство больных выздоравливают, однако иногда наблюдаются случаи смерти от тяжелой или фульминантной печеночно-клеточной недостаточности. Причинами смерти при остром гепатите являются печеночно-клеточная недостаточность, кровотечения, развитие тяжелой бактериальной инфекции или почечная недостаточность. Если воспалительный процесс в печени сохраняется в течение 6 месяцев, это свидетельствует о развитии хронического гепатита. У многих больных хронические гепатиты протекают бессимптомно. Диагноз может быть установлен только в случае развития тяжелых осложнений заболеваний печени или в следующих ситуациях: если больной инфицирует своего полового партнера, у которого развивается острый гепатит, путем скрининга в центрах переливания крови, при выявлении повышенных уровней печеночных ферментов в крови.

Диагностика острого ВГС нередко затруднена. Диагноз острого ВГС можно предположит при соответствующих данных (наркомания, возможные парентеральные пути передачи, лечение в отделениях гемодиализа, перенесенная трансплантация органов и др.) при лабораторных исследованиях выявляется умеренное повышение активности аминотрансфераз. Течении острого ВГС редко бывает фульминантным. Основная проблема заключается в хронизации заболевания, частота которой превышает 80%. Противовирусная терапия может предотвратит переход острого ВГС в хроническую форму. Активные профилактические мероприятия, направленные на предупреждение инфекции ВГС, в настоящие время не разработаны. Высокая мутационная способность вируса (РНК-содержащего) затрудняет создание активной вакцины.

**2.3 Вирусный гепатит D**

**Вирусный гепатит D (ВГD)** - острая или хроническая вирусная инфекция из условной группы трансфузионных гепатитов, характеризующаяся поражением печени и протекающая в виде коинфекции или суперинфекции на фоне гепатита В. Синоним - гепатит - дельта.

**Возбудитель** - дефектный РНК-геномный вирус.

**Путь передачи** *-* парентеральный, с теми же особенностями, что и при вирусном гепатите В. Риск заражения особенно велик для постоянных реципиентов донорской крови или её препаратов, для лиц, подвергающихся частым парентеральным вмешательствам, а также для наркоманов, вводящих наркотики внутривенно. Заражение чаще всего происходит в хирургических, туберкулёзных отделениях, центрах гемодиализа. Возможна трансплацентарная передача ВГD от беременной плоду. Высокая частота распространения инфекции среди лиц, ведущих беспорядочную половую жизнь (особенно среди мужчин-гомосексуалистов), даёт основание полагать, что возможен и половой путь заражения.

Заражение ВГD происходит только парентеральным путём и лишь при наличии репродуцирующегося вируса ВГВ.

Возбудитель встраивается в геном вируса вирусного гепатита В, воздействуя на его синтез и усиливая репликацию последнего. Заболевание может проявляться в виде коинфекциипри одновременном заражении вирусами ВГВ и ВГD и суперинфекциив тех случаях, когда вирус ВГD попадает в организм человека, ранее заражённого вирусом ВГВ (острое или хроническое течение вирусного гепатита В). Репликация вируса ВГD происходит в клетках печени. Патогенез повреждения гепатоцитов при этом заболевании до конца не расшифрован, однако существует мнение, что вирус обладает непосредственным цитопатическим действием на клетки печени. При острой инфекции в крови больных выявляют IgM к антигенам ВГD; в течение нескольких ближайших месяцев появляются специфические IgG. При хроническом течении заболевания определяются только IgG к антигенм ВГD. Для выявления РНК ВГD широко применяют метод ПЦР.

Этиотропного лечения острого ВГD не существует. Иммунопрофилактика, проводимая аналогично таковой при гепатите В, защищает от коинфекции ВГD, но не предохраняет от инфекции ВГD (суперинфекции) у HBsAg - положительного носителя.

**2.4 Вирусный гепатит Е**

**Вирусный гепатит Е (ВГЕ)** - вирусная инфекция из условной группы фекально-оральных гепатитов, характеризующаяся поражением печени, острым циклическим течением и тяжёлыми проявлениями у беременных.

**Возбудитель** - РНК-геномный вирус.

**Механизм передачи**- фекально-оральный, путь передачи- преимущественно водный. Имеются данные о распространении возбудителя и контактно-бытовым путём. Предполагают возможность заражения вирусным гепатитом Е при употреблении в пищу сырых моллюсков. В пользу воды как главного фактора передачи инфекции свидетельствуют низкая очаговость, возникновение массовых заболеваний, связанных с сезонами дождей и с высоким стоянием уровня грунтовых вод.

Патогенез до конца не изучен. Заражение происходит при употреблении контаминированной воды или пищи. Вирус, видимо, избирательно поражает гепатоциты, что ведёт к нарушению функции печени и развитию интоксикации. При вирусном гепатите Е значительно чаще, чем при ВГЕ, встречают тяжёлые формы заболевания, в ряде случаев приводящие к летальному исходу.

Естественная восприимчивость людейвысокая, особенно женщин в III триместр беременности.

Наиболее опасен ВГЕ во II и III триместрах беременности. При этом течение желтушного периода скоротечно, он быстро переходит в острую печёночную энцефалопатию. Фазы острой печёночной энцефалопатии быстро сменяют друг друга, и больные впадают в глубокую кому. Сильно выражен геморрагический синдром. Смерть плода наступает до рождения. В этой категории больных летальность колеблется в пределах 10-20%, а в некоторых случаях может достигать 40-50%.

Дифференциальная диагностика затруднена в связи с тем, что клиническое течение гепатита Е в основных своих проявлениях сходно с другими вирусными гепатитами. При дифференциальной диагностике следует учитывать анамнестические сведения о пребывании больного в районах, неблагополучных по данному заболеванию (тропики и субтропики, среднеазиатские республики СНГ). ВГЕ чаще заболевают лица молодого возраста. При подозрении на ВГЕ у беременных для подтверждения диагноза необходима обязательная маркерная диагностика, поскольку у них заболевание протекает наиболее тяжело с большим количеством летальных исходов.Лечение в неосложнённых случаях аналогично таковому при ВГА.

Меры специфической профилактики не разработаны. Имеются рекомендации о введении беременным специфического иммуноглобулина. Особое значение уделяют обеззараживанию воды.

**.5 Вирусный гепатит F**

**Вирусный гепатит F (ВГF)** - еще один тип вирусного гепатита человека, существование которого предполагается на основании эпидемиологических данных и предварительного изучения в опытах на обезьянах отдельных изолятов вируса от больных посттрансфузионным гепатитом.

**Гепатит F** вызывается вирусом со свойствами аденовируса, который относится к ДНК-содержащим вирусам и является предполагаемым возбудителем ни-А, ни-Е гепатита с фекально-оральным механизмом передачи. Эти данные требуют дальнейшего подтверждения.

Этиология, эпидемиология, патогенез и клиника в настоящее время мало изучены.

Однако установлено, что клинико-эпидемиологические характеристики данного гепатита схожи с таковыми при остром вирусном гепатите А.

Имеются сведения, что некоторая доля больных, перенесших явно посттрансфузионный гепатит, остается серонегативной в отношении всех маркеров известных вирусных гепатитов человека.

Более того, длительные наблюдения за отдельными больными - лицами с высоким риском заражения посттрансфузионным гепатитом - такими как наркоманы или больные гемофилией, показали, что у них имеют место повторные заболевания желтухой, в том числе этиологически не связанные с вирусами гепатитов А, В, С, D, Е и G.

Методы специфической диагностики острого вирусного гепатита F практически не разработаны

**.6. Вирусный гепатит G**

**Гепатит G** вызывается РНК-содержащим вирусом (HGV), относящимся к семейству флавовирусов, как и HCV. По разным данным, имеется 3-5 генотипов HGV. Устойчивость к воздействию химических факторов внешней среды пока еще не изучена. Острый вирусный гепатит G распространен в мире повсеместно и неравномерно.

Источниками заражения служат больные острыми и хроническими вирусными гепатитами G, а также носители HGV.

**Основные пути передачи:**

парентеральный;

половой;

трансплацентарный;

Восприимчивость к гепатиту G высокая. Среди наркоманов с парентеральным введением наркотиков восприимчивость составляет 85,2%.

Патогенез острого вирусного гепатита G изучен недостаточно. Более чем у половины инфицированных обнаруживают нормальный уровень АлАТ и АсАТ в сыворотке крови, в связи с чем имеется предположение о том, что внедрение HGV в организм не всегда сопровождается поражением печени, т.е. отсутствует первичная гепатотропность HGV. Изучается возможная связь HGV с некоторыми системными заболеваниями. Вирус закономерно выявляют в лимфоцитах периферической крови, в клетках слюнных желез.

Инкубационный период не установлен.

Инфекция часто приобретает хроническое течение, особенно у пациентов с фоновой патологией печени. Рассматривается вопрос о роли HGV в качестве самостоятельного этиологического фактора хронического гепатита. Иммунопрофилактикав настоящее время не разработана.

**3. Характеристика вирусного гепатита В**

**Вирусный гепатит В (ВГВ)** - антропонозная вирусная инфекция из условной группы трансфузионных гепатитов, характеризующаяся иммунологически опосредованным поражением гепатоцитов и протекающая в различных клинических формах (от вирусоносительства до цирроза печени).

ВГВ одна из самых актуальных проблем здравоохранения во всем мире в связи с непрерывно увеличивающейся заболеваемостью, отрицательно влияющей на состояние здоровья и трудоспособность человека из-за частого развития неблагоприятных исходов (хронический гепатит, цирроз печени, гепатокарцинома) и смертностью как от острых, так и от хронических форм инфекции.

**3.1 Этиология**

**Возбудитель** - ДНК-геномный вирус рода ***Orthohepadnaviru****s* семейства ***Hepadnaviridae.***В крови больных вирусным гепатитом В циркулируют частицы трёх морфологических типов. Наиболее часто обнаруживают сферические частицы, реже - нитевидные формы. **Вирусные частицы этих типов не проявляют инфекционных свойств.** Лишь 7% частиц представлено комплексными двухслойными сферическими образованиями с полной структурой (так называемые частицы Дейна), проявляющими выраженную инфекционность. Верхний их слой образует суперкапсид. Геном представлен неполной (одна нить короче) двухнитевой кольцевой молекулой ДНК и ассоциированной с ней ДНК-полимеразой. У вирионов выделяют четыре антигена - поверхностный (HBsAg) и три внутренних (HBeAg, HBcAg и HBxAg).

Основными антигенами частиц Дейна являются поверхностный HBsAg и сердцевинный HBcAg. Антитела против HBsAg и HBcAg появляются в течение заболевания. Повышение титра антител против HBcAg напрямую связано с формированием противовирусных иммунных реакций, HBcAg (сердцевинный антиген) играет важную роль в репродукции вируса. При инфекционном процессе он выявляется только в ядрах гепатоцитов. HBeAg локализуется не только в сердцевине вируса, он циркулирует в крови в свободном виде или связан с антителами. Его определяют как антиген инфекционности. HBsAg (поверхностный антиген) определяет способность к длительной персистенции вируса в организме; он имеет относительно низкую иммуногенность, термостабильность и устойчивость к протеазам и детергентам. Известно несколько подтипов HBsAg, отличающихся субдетерминантами: ***adw, adr, ayw, ayr****.* Общей антигенной детерминантой является ***а***детерминанта, поэтому поствакцинальный иммунитет является защитным по отношению к любому субтипу вируса. В Украине регистрируют в основном субтипы ***ayw***и ***adw****.* Клинические проявления болезни не зависят от субтипа вируса. HBxAg остаётся наименее изученным. Предположительно он опосредует злокачественную трансформацию клеток печени.

Вирус вирусного гепатита В чрезвычайно устойчив во внешней среде. В цельной крови и её препаратах сохраняется годами. Антиген вируса обнаруживают на постельных принадлежностях, медицинских и стоматологических инструментах, иглах, загрязнённых сывороткой крови (при хранении в течение нескольких месяцев при комнатной температуре). Вирус инактивируется после автоклавирования при 120°С через 45 мин, стерилизации сухим жаром при 180°С через 60 мин, кипячении в течении 30 мин, а также при прогревании при температуре 60°С в течении 10 ч. Он чувствителен к кислым значениям рН, но разрушается в щелочной среде. На него губительно действуют перекись водорода, хлорамин, формалин, УФ-облучение в сочетании с β-пропиолактоном.

**3.2 Эпидемиология**

**Источник инфекции**- лица с манифестными или субклиническими формами заболевания (больные острым и хроническим гепатитами, с циррозом печени и так называемые «здоровые» вирусоносители). В крови больного вирус появляется задолго до проявления болезни (за 2-8 нед до повышения активности аминотрансфераз) и циркулирует в течение всего острого периода болезни, а также при хроническом носительстве, формирующемся в 5-10% случаев. По оценкам специалистов, в мире насчитывают 300-350 млн вирусоносителей, каждый из которых представляет реальную угрозу как источник возбудителя инфекции. Заразность источников инфекции определяют активность патологического процесса в печени и концентрация антигенов вирусного гепатита В в крови.

**Механизм передачи***.* Выделение вируса с различными биологическими секретами (кровь, слюна, моча, жёлчь, слёзы, грудное молоко, сперма и др.) определяет множественность путей передачи инфекции. Однако только кровь, сперма и, возможно, слюна представляют реальную эпидемиологическую опасность, так как в других жидкостях концентрация вируса очень мала.

**Заболевание передаётся главным образом парентеральным путём** при переливаниях крови и кровезаменителей, при использовании медицинских инструментов без их достаточно эффективной стерилизации. Процент посттрансфузионного вирусного гепатита В в последние годы значительно уменьшился. Все еще часто пациенты инфицируются при осуществлении различных лечебно-диагностических процедур, сопровождающихся нарушением целостности кожных покровов или слизистых оболочек (инъекции, стоматологические процедуры, гинекологическое обследование и т.д.). В связи с колоссальным ростом наркомании все большее значение приобретает распространение гепатита В среди потребителей внутривенных наркотических средств. Уменьшился вклад медицинских манипуляций в распространение вирусных гепатитов, но при этом резко увеличилось число лиц, заразившихся в результате внутривенного введения наркотиков.

Из естественных механизмов передачи реализуется **контактный (половой) путь**, а также передача вируса через различные инфицированные предметы обихода (бритвы, зубные щетки, полотенца и т.д.) при проникновении возбудителя в организм через микротравмы на коже и слизистых оболочках. Заражение происходит также в результате нанесения татуировки, прокола мочек ушей и при других манипуляциях.

Число инфекций, передающихся при половых контактах, превышает 20 нозологических форм. Среди них кроме «классических» венерических болезней, таких, как сифилис, гонорея и прочие бактериальные инфекции, все большую роль начинают играть те, которые давно известны, но по разным причинам раннее не рассматривались, как инфекции передаваемые половым путем. К ним относится и вирусный гепатит В. **Половой путь передачи** ВГВ реализуется при гомо- и гетеросексуальных контактах: вирус проникает через микротравмы слизистых оболочек при половых контактах.

**Контактно-бытовой путь** передачи инфекции - внутрисемейное инфицирование, инфицирование в организованных коллективах детей и взрослых. Главную опасность представляют носители вирусного гепатита В при тесном общении в этих коллективах.

Возможна также и **вертикальная передача** возбудителя. Обычно заражение происходит во время родов, однако инфицирование плода возможно в матке при разрыве плаценты. Опасность передачи инфекции возрастает в десятки раз при наличии у женщины не только HBsAg, но и HBeAg. Если не проводить специальных профилактических мероприятий, вирусный гепатит В инфицируется до 90% детей, родившихся от матерей-вирусоносителей.

Доля естественных путей заражения составляет 30-35% и имеет тенденцию к увеличению. Серьёзную опасность представляет распространение вирусного гепатита В в коллективах с круглосуточным пребыванием детей: в домах ребёнка, детских домах, интернатах. Эти дети, как правило, имеют отягощенный анамнез и часто подвергаются парентеральным лечебно-диагностическим процедурам. Угроза заражения вирусным гепатитом В существует и для медицинских работников домов ребёнка, осуществляющих уход за детьми.

**Естественная восприимчивость**высокая. Известно, что переливание крови, содержащей HBsAg, приводит к развитию гепатита у 50-90% реципиентов в зависимости от инфицирующей дозы. Постинфекционный иммунитет длительный, возможно пожизненный. Повторные случаи заболеваний наблюдают исключительно редко.

**Основные эпидемиологические признаки*.*** Вирусный гепатит В относят к числу повсеместно распространённых инфекционных болезней. Считается, что вирусом инфицированы около 2 млрд человек, ежегодно умирают порядка 2 млн больных. На поздних этапах заболевания возникает угроза развития опухоли и цирроза печени, особенно у лиц, инфицированных ещё в детстве. В ряде стран вирус вирусного гепатита В ответственен за 80% всех случаев первичной гепатоцеллюлярной карциномы. На долю вирусного гепатита В приходится около половины всех клинических гепатитов, и смертность от острого вирусного гепатита В составляет около 1%.

Заболеваемость вирусным гепатитом В связана в основном с плохими социальными и экономическими условиями жизни. Весь мир можно разделить на регионы с высокой, промежуточной и низкой эндемичностью. Среди «здоровых» носителей значителен процент невыявленных бессимптомных форм инфекции. Есть все основания полагать, что скрыто протекающий эпидемический процесс при вирусном гепатите В по своей интенсивности и темпам прироста показателей превышает манифестный.

В эпидемический процесс интенсивно вовлекается молодое трудоспособное население: среди заболевших преобладают лица в возрасте от 15 до 30 лет, на долю которых приходится около 90% заболевших. Такой возрастной состав заболевших гепатитом обусловлен тем, что в структуре путей инфицирования доминирует «наркозависимый» и половой пути передачи инфекции. Молодые люди в возрасте до 30 лет, употреблявшие наркотики, составляют 80% умерших от вирусного гепатита В. Значительная часть летальных исходов (до 42%) обусловлена одновременным инфицированием вирусным гепатитом В, вирусным гепатитом С и вирусным гепатитом D. В настоящее время в нашей стране проблема парентеральных гепатитов по сути из медицинской превращается в социальную.

Среди заболевших преобладают лица, подвергавшиеся гемотрансфузиям и другим медицинским парентеральным манипуляциям. Группы риска составляют медицинские работники, в процессе своей профессиональной деятельности, соприкасающиеся с кровью и её препаратами (хирурги, стоматологи, работники гемодиализа, лабораторий и др.), а также наркоманы (особенно в последние годы) при пользовании единым шприцем и заражении друг от друга половым путём. Характерен семейный характер заболеваемости, где активно реализуются половой и контактный пути заражения. В различных регионах мира преобладают различные основные пути распространения инфекции. В высокоразвитых странах с исходно благоприятной эпидемической обстановкой более 50% новых случаев вирусного гепатита В обусловлено половым путём передачи инфекции. Подростки и молодые люди в силу их активной половой жизни составляют группу особенно высокого риска заражения вирусным гепатитом В. В регионах с низкой эндемичностью большое значение в передаче вируса вирусного гепатита В имеет заражение парентеральным путём. В регионах с высокой эндемичностью наиболее обычным путём передачи инфекции является перинатальное заражение ребёнка от матери. Приблизительно 5-17% беременных являются носителями вируса вирусного гепатита.

**3.3 Патогенез**

Вирус проникает в организм человека через повреждённые кожные покровы или слизистые оболочки, затем гематогенно диссеминирует в печень, где фиксируется на гепатоцитах благодаря поверхностным рецепторам, содержащим HBsAg. Экспрессия HBsAg происходит на мембране печёночных клеток. При этом возбудитель не оказывает прямого цитопатического действия на клетки печени.

Процесс репродукции в гепатоцитах обусловлен активностью ДНК-полимеразы, активно участвующей в «достройке» неполноценной цепочки вирусной ДНК за счёт антигенов гистосовместимости, общих для различных клеток организма хозяина. Дочерние популяции накапливаются в поверхностной мембране гепатоцитов.

Цитолиз печёночных клеток происходит под действием цитотоксических иммунных механизмов. Мишенями для последних являются антигенные детерминанты вируса вирусного гепатита В, ассоциированные с антигенами главного комплекса гистосовместимости на поверхности гепатоцитов.

Существенную роль в патогенезе вирусного гепатита В играют иммунные комплексы (HBsAg-антитела), оседающие на эндотелии сосудов различных органов и в лимфатических узлах, обусловливая внепечёночные поражения (например, гломерулонефрит и узелковый периартериит).

Аутоиммунные реакции возникают также в ответ на воздействие фрагментов гепатоцитов после их гибели. Это ведёт не только к элиминации указанных фрагментов, но и к повреждению здоровых печёночных клеток.

Морфологические изменения характеризуются дистрофическими и некробиотическими процессами в центролобулярных и перипортальных зонах печёночной дольки с последующим развитием фиброза. Одновременно в процесс вовлекаются внутрипечёночные жёлчные ходы, что ведёт к формированию холестаза.

**3.4 Клиническая картина**

**Инкубационный период*.***При острой циклической форме вирусного гепатита В его длительность подвержена большим колебаниям и варьирует от 30 до 180 дней и более.

**Дожелтушный период*.***Может протекать в тех же вариантах, что и при вирусном гепатите В, но чаще встречают артралгический, астеновегетативный и диспептический варианты. При диспептическом варианте выражены стойкая анорексия, постоянное чувство тошноты, периодическая рвота без каких-либо видимых причин. Следует заметить, что при гриппоподобном варианте дожелтушного периода при вирусного гепатита В катаральные явления нехарактерны и только у небольшой части больных можно наблюдать повышение температуры тела. Вместе с тем больные нередко жалуются на суставные боли; при этом внешне суставы, как правило, не изменяются. Артралгии чаще бывают в ночное и утреннее время, а при движениях в суставах ненадолго исчезают. Их могут сопровождать высыпания на коже типа крапивницы. Сочетание артралгии и экзантемы обычно предвещает более тяжёлое течение заболевания. В таких случаях клиническую картину дополняет повышение температуры тела, иногда до высоких цифр. Уже в дожелтушный период можно наблюдать головокружение, упорную сонливость и проявления геморрагического синдрома в виде кровотечений из носа и дёсен.

**Желтушный период***.* Самочувствие больных, как правило, не улучшается, а в большинстве случаев ухудшается. Артралгии и экзантема исчезают, но нарастают диспептические симптомы. Иктеричность кожных покровов и слизистых оболочек медленно прогрессирует, достигая своего максимума не ранее 7-10-го дня с момента её появления. Желтуха обычно интенсивная, сопровождается кожным зудом. На коже нередко выявляют геморрагии в виде петехий или крупных синяков. При более тяжёлом течении отмечают носовые кровотечения, кровоточивость дёсен, а у женщин - ранний приход обильных менструаций. Моча приобретает тёмный цвет, у большинства больных кал ахоличен. Печень, как правило, увеличивается в размерах; она отчётливо болезненна при пальпации, достаточно мягкая по консистенции. Необходимо обратить внимание на то, что на фоне интенсивной желтухи нередко печень не увеличивается, что указывает на более тяжёлое течение гепатита. В 50-60% случаев наблюдают спленомегалию. Пульс урежен, однако при более тяжёлом течении можно наблюдать тахикардию. Тоны сердца приглушены, отмечают небольшую гипотонию. Больные обычно апатичны, испытывают головокружение, расстройства сна. Течение желтушного периода длительное, затягивается до 1 мес и более.

**Период реконвалесценции**начинается с момента уменьшения или исчезновения комплекса диспептических симптомов, после чего происходит медленное снижение билирубинемии. Что касается изменения размеров печени, то этот процесс иногда затягивается на несколько месяцев. При присоединении холестатического компонента (5-15% больных) заболевание приобретает торпидное течение. В этих случаях характерны невыраженная интоксикация, длительные холестатические проявления (высокие «монотонные» показатели билирубинемии и ферментемии, тёмная моча, ахоличный стул, увеличенная, не сокращающаяся в размерах печень, субфебрилитет).

Помимо острой циклической формы заболевания вирусного гепатита В может проявляться в виде хронической формы (хронизация в 5-10% случаев) и циррозов вирусной этиологии.

**3.5 Осложнения**

Наиболее тяжёлое и серьёзное в плане прогноза осложнение - **острая печёночная энцефалопатия**(печёночная кома). Она развивается при массивном цитолизе гепатоцитов и характеризуется глубоким угнетением функции печени, прогрессирующей психоневрологической симптоматикой и выраженными геморрагическими проявлениями. В своём клиническом развитии острая печёночная энцефалопатия проходит три последовательных стадии.

**Стадия I (прекома I).** Характерны резкое ухудшение состояния больного, усиление желтухи и диспептического синдрома (тошнота, повторная рвота), развитие геморрагических проявлений, появление печёночного запаха изо рта. Нарушаются ориентация во времени и пространстве, координация точных движений (пальценосовая и писчая пробы). Характерны замедление мышления, расстройства сна (сонливость днём и бессонница ночью), головокружение, чувство «провалов» (ощущение падения в пропасть при закрывании глаз). Обращает на себя внимание эмоциональная неустойчивость - апатия, вялость, чувство тревоги, тоски, сменяющиеся возбуждением, эйфорией. Могут появиться боли в области печени, повышение температуры тела. Брадикардия или нормокардия сменяется тахикардией. У больных с портокавальной недостаточностью отмечают преходящие нарушения сознания.

**Стадия II (прекома II).** Характерно более глубокое нарушение сознания; оно часто бывает спутанным. Больные дезориентированы во времени и пространстве, эйфоричны или агрессивны; возбуждение кратковременное и сменяется апатией, интоксикация усиливается. Появляется тремор рук и кончика языка, усиливается геморрагический синдром. Печень уменьшается в размерах и может стать недоступной для пальпации. Нарастает тахикардия, артериальное давление склонно к снижению. Развивается отёчно-асцитический синдром. Продолжительность обеих стадий прекомы - от нескольких часов до нескольких дней.

**Стадия III (кома).** Отличается потерей сознания и вначале бывает неглубокой. Больные реагируют стоном на сильные раздражители (например, пальпацию печени). Глотательный и роговичный рефлексы сохранены. Появляются патологические рефлексы, непроизвольное мочеиспускание и дефекация. При глубокой коме наступает арефлексия, утрачивается реакция на любые раздражители. Больные погибают при явлениях острой сердечнососудистой недостаточности.

Уже на начальных этапах развития острой печёночной энцефалопатии прогрессивно уменьшаются показатели протромбинового индекса, что имеет большое значение для оценки тяжести этого состояния.

Тяжёлое **фульминантное (молниеносное) течение**вирусного гепатита В чаще отмечают у пациентов молодого возраста, особенно при микст-инфекции (сочетании вирусного гепатита В + вирусного гепатита D или вирусного гепатита В + вирусного гепатита С). Характерно быстрое и раннее развитие острой печёночной энцефалопатии с высоким процентом (до 90%) летальных исходов.

При острой печёночной энцефалопатии характерны **присоединение вторичной инфекции**с развитием сепсиса, прогрессивное ухудшение функции почек с уменьшением почечного кровотока и скорости клубочковой фильтрации, снижением концентрации натрия в моче, повышением её плотности, уменьшением диуреза.

**.6 Лечение**

Больных с острым циклическим течением вирусного гепатита В госпитализируют. В лёгких и среднетяжёлых случаях лечение аналогично таковому при вирусном гепатите А. При тяжёлом течении решают вопрос о назначении преднизолона по 40-60 мг/сут внутрь. Снижение доз производят постепенно с момента купирования симптомов интоксикации. Одновременно больным интенсифицируют дезинтоксикационную терапию (кристаллоиды и реополиглюкин в соотношении 1:3), проводят коррекцию нарушений водно-электролитного баланса (панангин, аспаркам при гипокалиемии), применяют лактулозу (нормазу), спазмолитические препараты (но-шпа, эуфиллин), назначают антибиотики с низкой резорбцией из кишечника (неомицин). В случаях выраженного холестаза рекомендованы препараты урсодеоксихолевой кислоты (уросан, урсофальк). При развитии острой печёночной энцефалопатии назначают глюкокортикоиды (внутривенно 240-480 мг и более преднизолона в сутки), хотя их эффективность сомнительна.

**4. Профилактика**

В комплексе профилактических мероприятий первостепенное значение имеют меры, направленные на предупреждение заражений вирусным гепатитом В при переливаниях крови и проведении лечебно-диагностических парентеральных манипуляций. Всех доноров подвергают комплексному клинико-лабораторному обследованию на наличие антигенов гепатита В. От донорства отстраняют лиц, перенесших вирусный гепатит В, независимо от срока давности, а также общавшихся с больными в течение последних 6 мес. К сдаче крови не допускают лиц, страдающих хроническим гепатитом (в том числе неясной этиологии) и подвергшихся за последние годы гемотрансфузии. Перспективным является внедрение аутогемотрансфузий, когда больному переливают его же кровь, заготовленную до плановой операции. Неспецифическую профилактику гепатита В проводят с применением одноразовых инструментов при манипуляциях, связанных с повреждением кожных покровов и слизистых, тщательной стерилизацией медицинского инструментария, а также жесткого контроля по обнаружению вирусных антигенов у доноров. Первостепенное значение имеет повсеместное внедрение и улучшение централизованной стерилизации изделий медицинского назначения. Прерывание естественных путей передачи вирусного гепатита В обеспечивают санитарно-гигиенические меры: индивидуализация всех предметов личной гигиены и раздельное их хранение (бритвенные приборы, зубные щетки, мочалки, расчёски, и др.), выполнение правил личной гигиены, предупреждение микротравм в быту и на производстве. Для профилактики полового пути передачи инфекции следует избегать случайных половых связей, использовать механические контрацептивные средства. Предупреждение профессиональных заражений в лечебно-профилактических учреждениях достигают неукоснительным соблюдением правил противоэпидемического режима, особенно в гемодиализных, хирургических, лабораторных и других отделениях, в которых персонал часто имеет контакт с кровью. При выполнении любых парентеральных вмешательств и процедур обязательно используют резиновые перчатки.

Учитывая многообразие путей передачи вирусного гепатита В и большое число источников инфекции, наиболее перспективное средство профилактики - вакцинация. Именно она является единственным средством профилактики гепатита В у новорождённых. Это первая вакцина, которая предотвращает раковое заболевание печени и снижает уровень носительства вируса в популяции. ВОЗ, обобщив многолетний опыт применения вакцины против гепатита В, рекомендует в качестве наиболее эффективной меры специфической профилактики этой инфекции введение вакцинации в национальные календари профилактических прививок вне зависимости от уровня носительства HВsAg. Сегодня есть все основания относить гепатит В к инфекциям, управляемым средствами специфической профилактики.

За последнее десятилетие в мире привито более 100 млн. человек, что позволило в ряде стран не только резко уменьшить заболеваемость гепатитом В и существенно повлиять на уровень носительства в популяции, но и сделать правомерным постановку вопроса о полном искоренении в этих странах гепатита В. Более 75 стран включили в свои программы вакцинации рутинную иммунизацию против гепатита В новорождённых и подростков. В настоящее время во многих странах Европы и Америки проводят сочетанную вакцинацию против гепатита В в рамках расширенной программы иммунизации детей. Специфическую профилактику гепатита В осуществляют путём применения одной из вакцин: HBVax-II (США), Энджерикс-В (Бельгия), Rec-HbsAg (Куба), Эувакс В (Южная Корея) и Комбиотех (Россия).

Все вакцины против гепатита В взаимозаменяемы. Любую из них можно применять для завершения курса первичной иммунизации, начатой другой вакциной. Вакцину вводят внутримышечно, у детей и взрослых - в область дельтовидной мышцы, у новорождённых и маленьких детей - в переднебоковую поверхность бедра. При сочетании с другими парентеральными вакцинами её вводят отдельным шприцем в другой участок. Вакцины индуцируют образование специфических антител к HBsAg. Титр анти-HBsAT, равный 10 МЕ/л, достаточен для создания невосприимчивости к вирусному гепатиту В. Достижение такого уровня антител после первичной иммунизации приводит к формированию долговременной иммунологической памяти и обеспечивает продолжительную защиту от гепатита В даже при дальнейшем падении уровня антител Иммунологическая память сохраняется по меньшей мере от 5 до 12 лет независимо от уровня антител сыворотки перед повторным ведением антигенов.

Вакцинации подлежат медицинские работники из групп высокого риска заражения вирусным гепатитом В, выпускники медицинских ВУЗов и техникумов, новорождённые, родившиеся от матерей-носителей HBsAg и женщин, переболевших гепатитом В в III триместре беременности, дети и персонал детских домов и специнтернатов, пациенты, находящиеся в отделениях с высоким риском заражения гепатитом В, лица, соприкасавшиеся с больными гепатитом В в очагах заболевания по месту жительства. Календарь Украины предусматривает проведение плановых прививок детям первого года жизни по схеме: новорожденные (в первые 12 часов жизни), 1 мес, 6 мес. В 13 лет вакцинируют детей, ранее не привитых против гепатита В по схеме 0-1-6 мес. Детям, родившимся от матерей, носителей вируса гепатита В или больных вирусным гепатитом В в III триместре беременности вакцинация против гепатита В проводится по схеме 0-1-2-12 мес. Вакцинации в любом возрасте подлежат: дети и взрослые, в семьях которых есть носитель HBsAg или больной хроническим гепатитом В; дети домов ребенка, детских домов и интернатов; дети и взрослые, регулярно получающие кровь и ее препараты, а также находящиеся на гемодиализе и онкогематологические больные; лица, у которых произошел контакт с материалом, инфицированным вирусом гепатита В; медицинские работники, имеющие контакт с кровью больных; лица, занятые в производстве иммунобиологических препаратов из донорской и плацентарной крови; студенты медицинских институтов и учащиеся средних медицинских учебных заведений (в первую очередь выпускники); лица, употребляющие наркотики инъекционным путем.

В настоящее время предполагается, что длительность поствакцинального иммунитета составляет примерно 15 лет. Накопленный опыт свидетельствует, что проведение вакцинации приводит к снижению заболеваемости в 10-12 раз и носительства HBsAg в популяции с 9-12% до 1%.

Более половины всех случаев заболеваний среди медицинских работников приходится на первые пять лет от начала работы, и основная их часть - при стаже от одного до пяти лет. Это свидетельствует о необходимости обязательной вакцинации против гепатита В медработников до начала их профессиональной деятельности.

Однако иммунизация только групп риска (медицинские работники, имеющие «кровяные контакты», новорождённые от носителей и больных, персонал и дети домов ребенка) не обеспечивает эффективного снижения заболеваемости. Активно повлиять на эпидемический процесс и добиться существенного снижения заболеваемости гепатитом В возможно лишь перейдя от вакцинации только лиц, составляющих «группы риска» к иммунизации подростков и новорождённых детей.

**.1 Эпидемиологический надзор**

Большое значение имеют определение доли вирусного гепатита В среди всех острых гепатитов, регистрация и учёт хронических форм болезни. Анализ заболеваемости гепатитом проводят с учётом активности тех или иных путей заражения, определяющих социально-возрастную структуру заболевших. Серологический мониторинг включает в себя сбор информации о скрыто протекающем эпидемическом процессе вирусного гепатита В на популяционном, коллективном и индивидуальном уровнях.

Осуществляют оценку эпидемиологической эффективности вакцинации и других мер профилактики вирусного гепатита В среди различных групп населения, их социально-экономической значимости.

**4.2 Мероприятия в эпидемическом очаге**

Заболевшие острой формой вирусного гепатита, а также больные хронической формой в период обострения подлежат обязательной госпитализации в инфекционную больницу или отделение, а с подозрением на это заболевание - в диагностическое отделение или боксы. Выписку реконвалесцентов и допуск их к работе (в том числе работников пищевых предприятий и лиц, к ним приравненных) или в детские учреждения осуществляют по клиническим показаниям. Переболевшие вирусным гепатитом В подлежат диспансерному наблюдению сроком не менее 12 мес. Упомянутых лиц снимают с учёта при отсутствии хронического гепатита и 2-кратном отрицательном результате исследования на наличие HBsAg, проведённого с интервалом в 10 дней. Носителей HBsAg наблюдают в течение 2 лет. Обследование на наличие антигенов проводят сразу по выявлении, через 3 мес, а затем 2 раза в год до снятия с учёта. Если антигены обнаруживают более 3 мес, то таких носителей расценивают как хронических; они подлежат наблюдению как больные хроническим гепатитом. В отношении других лиц в очаге вирусного гепатита В никаких ограничительных мер не проводят.

Выделения больного и носителя, посуда, постельное и нательное бельё, полотенца и т.д. подлежат обработке дезинфицирующими средствами. Экстренная профилактика проводится путём введения специфического иммуноглобулина или вакцины (в соответствии с рекомендуемой схемой введения) при экстренных эпидемиологических ситуациях, т.е. при реальной угрозе заражения, например при случайном уколе или переливании инфицированной вирусом вирусного гепатита В крови.

**5. Методы лабораторной диагностики вирусного гепатита В**

Печень является своеобразной биохимической лабораторией организма. Когда функция печени нарушается, например, вследствие вирусного гепатита, это естественным образом отражается на активности ряда ферментов и концентрации многих веществ в крови больного.

Наиболее важным признаком гепатита является повышение активности ферментов (АлАТ и АсАТ, соответственно). Эти ферменты попадают в кровь в результате разрушения печеночной клетки и поэтому косвенно отражают выраженность этого процесса. По степени повышения АлАТ и АсАТ судят об активности гепатита. Если АлАТ повышено не более чем в 3 раза, говорят о мягком гепатите, в 3-10 раз - гепатите умеренной активности, более чем в 10 раз - высокой активности заболевания. Т.к. АсАТ может изменяться и при других заболеваниях внутренних органов, изменение АлАТ считают более специфичным для болезней печени.

Повышение в крови концентрации билирубина является следствием избыточного его образования или замедленного выведения из организма. При вирусных гепатитах нарушается выведение билирубина. Если концентрация билирубина в крови больше 30-35 мкмоль/л, появляется желтушное окрашивание слизистой полости рта, склер, а потом и кожи. У большинства больных гепатитом уровень билирубина не повышается.

Некоторые заболевания печени, иногда и вирусные гепатиты, протекают с синдромом холестаза (нарушением отделения желчи или некоторых ее компонентов). В этом случае у больных может повышаться активность таких ферментов как щелочная фосфатаза и гамма-глютамилтрансфераза (ГГТ), а также уровень холестерина и желчных кислот. Нужно иметь ввиду, что болезни печени не являются единственной причиной изменения активности и концентрации упомянутых ферментов или веществ.

Синтетическую функцию печени отражает концентрация белка в крови, в первую очередь - альбумина. При нарушении синтетической функции печени уменьшается концентрация в крови холестерина и мочевины.

Нужно сказать, что все перечисленные симптомы поражения печени не специфичны для вирусного гепатита, но могут встречаться и при других заболеваниях печени (алкогольном, лекарственном гепатите и др.).

Доказать, что выявленные при биохимическом исследовании крови изменения являются следствием вирусного гепатита можно лишь обнаружив в крови маркеры вирусных гепатитов.

**.1 Метод определения билирубина в сыворотке крови по диазореакции в присутствии акселератора (метод Йендрашика, Клеггорна и Гофа)**

**Принцип метода*.*** При взаимодействии сульфаниловой кислоты с азотистокислым натрием образуется диазофенилсульфоновая кислота, которая дает со связанным (прямым) билирубином сыворотки крови розово-фиолетовое окрашивание. По интенсивности окрашивания определяется концентрация билирубина, дающего прямую реакцию. При добавлении к сыворотке крови кофеинового реактива несвязанный (непрямой) билирубин переходит в растворимое диссоциированное состояние и со смесью диазореактивов дает розово-фиолетовое окрашивание. По интенсивности окрашивания определяют концентрацию общего билирубина. По разнице между общим и связанным билирубином определяют концентрацию несвязанного билирубина.

**Реактивы**

1. кофеиновый реактив (концентрат):

- бензонат натрия

ацетат натрия

кофеин

2. 0,9% раствор хлористого натрия.

3. Диазосмесь:

а) Диазореактив Ι - сульфониловая кислота

б) Диазореактив ІІ - раствор нитрита натрия

**Оборудование**

1. Фотоколориметр КФК-3.

2. Колба мерная емкостью 200 мл, пробирки емкостью 10 мл (ГОСТ 1770-74).

. Пипетки емкостью 1 и 5 мл (ГОСТ 29227-91).

**Приготовление рабочих растворов**

**1. Рабочий кофеиновый реактив***.* Содержание флакона с кофеиновым реактивом (концентратом) количественно переносят в мерную колбу емкостью 100 мл и, после растворения осадка, доводят дистиллированной водой до метки.

**2. Диазосмесь**. Перед работой смешивают необходимое количество раствора сульфаниловой кислоты и раствора нитрита натрия в отношении 100:3.

**Ход определения**

В 3 пробирки (для общего билирубина, прямого и для контроля) вводят реактивы согласно таблице:

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Ингредиенты в мл | Опытная проба, мл | | Холостая проба |
|  | Общий билирубин | Прямой билирубин |  |
| Сыворотка | 0,25 | 0,25 | 0,25 |
| Кофеиновый реактив | 1,75 | - | 1,75 |
| 0,9% р-р NaCl | 0,25 | 2,0 | 0,5 |
| Диазосмесь | 0,25 | 0,25 | - |

Для определения **прямого билирубина** колориметрирование следует проводить через 5-10 минут после добавления диазосмеси (при температуре +18°С до +25°С), т.к. при длительном стоянии в реакцию вступает непрямой билирубин.

Для определения **общего билирубина**пробу для развития окраски оставляют стоять на 20 минут (при температуре +18°С до +25°С), после чего колориметрируют. При дальнейшем стоянии окраска не изменяется. Измеряют на фотоэлектроколориметре при длине волны 530 нм (зеленый светофильтр) в кювете с толщиной слоя 5 мм против воды. Из показателей, полученных при колориметрировании общего и прямого билирубина, вычитают показатель прямого билирубина.

**Расчет** производят по калибровочному графику. Находят содержание общего и прямого билирубина. Для определения уровня непрямого билирубина вычитают из показателя общего его содержания показатель прямого билирубина.

**Калибровочный график** строится по готовому набору реактивов билирубин-эталон лиофизилированный, выпускаемый фирмой «Лахема» (Чехия).

**Метод:***Иендрашика ф. Филисит*

*КФК-3 №9001438*

*кювета 5 мм, λ=530 нм*

*Стандарт: Билирубин - стандарт ф. Lachema 391,51 мкмоль/л*

*Годен до 31.01.2012 г.*



Масштаб 1 мкмоль/л = 1 мм

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| № | Е | Еср | С, мккат/л |
| 1 | 0 | 0 | 0 |
| 2 | 0,049 0,049 0,048 | 0,049 | 19,6 |
| 3 | 0,123 0,122 0,120 | 0,122 | 48,9 |
| 4 | 0,234 0,246 0,234 | 0,238 | 97,9 |
| 5 | 0,367 0,347 0,365 | 0,359 | 146,8 |

ΣЕ=0,768; Е0,360=147 мм;

ΣС=313,2; 1Е = 147х1/0,360=408,3

F=313,2/0,768=407,12; 1т. 0,049 = 0,049х408= 19,9 мм;

F=3,6; 2т. 0,122 = 0,122х408 = 49,7 мм;

т. 0,238 = 0,238х408 = 97,1 мм;

т. 0,359 = 0,359х408 = 146,7 мм.

**Нормальные величины.**Содержание общего билирубина - 8,55 - 20,52 мкмоль/л. Из него 75% приходится на долю непрямого.

**Примечания**

1. Сыворотка не должна быть гемолизирована.

2. Перед определением билирубина обследуемый человек не должен принимать лекарства и пищу, которые вызывают искусственное окрашивание сыворотки (морковь, апельсин), а также витамин «С».

**5.2 Метод определения активности аспартатаминотрансферазы (К.Ф. 2.6.1.1.) в сыворотке крови динитрофенилгидразиновым методом (по Райтману, Френкелю, 1957)**

**Принцип метода**

**Аспартатаминотрансфераза (L-аспартат: 2-оксоглутарат аминотрансфераза, К.Ф. 2.6.1.1.)** катализирует реакцию между L-аспартатом и 2-оксоглутаратом, в результате которой они превращаются в L-глутамат и оксалацетат. Определение основано на измерении оптической плотности гидразонов и 2-оксоглутаровой и пировиноградной кислоты в щелочной среде. Гидразон пировиноградной кислоты, возникающей при самопроизвольном декарбоксилировании оксалацетата, обладает более высокой оптической плотностью.

**Реактивы**

1. Эталонный раствор натрий пировинограднокислый 2 ммоль/л

2. 2,4 - динитрофинилгидразин раствор 1 ммоль/л в НСl 1 моль/л

. Натрий гидроокись

. Субстрат АсАТ:

фосфатный буфер 0,1 моль/л

L-аспартат0,1 моль/л

2-оксаглуторат 2 ммоль/л

. 0,9% р-р NaCl

**Приготовление рабочего раствора**

Раствор гидроокиси натрия

В мерной колбе вместимостью 1000 мл растворяют в дистиллированной воде содержимое флакона с Реактивом 3. Раствор устойчив.

Ход определения

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Ингредиенты (мл) | Проба | Контрольный раствор |
| Субстратный раствор АсАТ | 0,5 | 0,5 |
| Физиологический раствор | - | 0,1 |
| Предварительно инкубируют в течении 3 мин при 37°С | | |
| Сыворотка крови | 0,1 | - |
| Перемешивают, инкубируют точно 60 мин при 37°С | | |
| 2,4 - ДНФГ | 0,5 | 0,5 |
| Перемешивают и оставляют стоять 20 мин при температуре (от + 15°С до +25°С) | | |
| 0,4н NaOH | 5,0 | 5,0 |

Перемешивают, выдерживают 10 минут при комнатной температуре. Колориметрируют при длине волны 530 нм в кювете 1х1 мм, против холостой пробы.

**Калибровка**

В обозначенные пробирки вносят пипеткой отдельные растворы в вышеприведенном порядке. После добавления реактива 2 содержимое пробирок перемешивают и через 20 мин добавляют раствор NaOH. Через 10 мин измеряют оптическую плотность раствора №2-5 против раствора №1. строят калибровочный график зависимости оптической плотности от концентрации.

|  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Раствор № | Физиологический раствор (мл) | Реактив 4 (мл) | Реактив 1 (мл) | Реактив 2 (мл) | | Раствор NaOH | Конечная кат. конц. (мккат/л) |
| 1 | 0,10 | 0,50 | - | 0,50 | | 5,00 | 0 |
| 2 | 0,10 | 0,45 | 0,05 | 0,50 | | 5,00 | 0,28 |
| 3 | 0,10 | 0,40 | 0,10 | 0,50 | | 5,00 | 0,56 |
| 4 | 0,10 | 0,35 | 0,15 | 0,50 | | 5,00 | 0,83 |
| 5 | 0,10 | 0,30 | 0,20 | 0,50 | 5,00 | | 1,11 |

**Расчет**

По оптической плотности пробы в калибровочном графике находят концентрацию фермента.

**Предупреждение**

Пробы сыворотки крови можно хранить при температуре (от +2 до +8)°С в течении одной недели.

При каталитической концентрации фермента свыше 0,56 мккат/л анализ проводят с сывороткой, разбавленной физиологическим раствором (результат умножить на разведение).

|  |  |
| --- | --- |
| При кат. концентрации фермента | Разведение |
| (0,56 - 0,70) | 3х |
| (0,70 - 0,80) | 5х |
| (0,80 - 1,00) | 10х |
| (1,00 - 1,20) | 30х |
| Свыше 1,20 | 50х |

Повышенное содержание кетоновых тел (в сыворотках диабетиков) вызывает повышение активности ферментов АсАТ и АлАТ. В таких случаях необходимо вычесть из оптической плотности пробы оптическую плотность сывороточного контрольного раствора. Сывороточный контрольный раствор приготавливают точно так же, как и пробу, с той лишь разницей, что сыворотку добавляют в пробирку после реактива 2.

Гемолиз повышает каталитическую концентрацию ферментов АсАТ и АлАТ. Снижение результатов вызывают синтетические моющие средства (сапонаты).

**Референтные величины**

АсАТ (мккат/л) 0,06-0,14

Предельные величины 0,42

**5.3 Метод определения активности аланинаминотрансферазы (К.Ф. 2.6.1.1.) в сыворотке крови динитрофенилгидразиновым методом (по Райтману, Френкелю, 1957)**

**Принцип метода**

**Аланинаминотрансфераза (L-аланин: 2-оксоглутарат аминотрансфераза, К.Ф. 2.6.1.2.)** катализирует реакцию между L-аланином и 2-оксоглутаратом, в результате которой они превращаются в L-глутамат и соль пировиноградной кислоты. Определение основано на измерении оптической плотности гидразонов и 2-оксоглутаровой и пировиноградной кислоты в щелочной среде. Гидразон пировиноградной кислоты обладает более высокой оптической плотностью.

**Реактивы**

1. Эталонный раствор натрий пировинограднокислый 2 ммоль/л;

2. 2,4 - динитрофинилгидразин раствор 1 ммоль/л в НСl 1 моль/л;

3. Натрий гидроокись;

4. Субстрат АлАТ:

фосфатный буфер 0,1 моль/л;

DL-альфа-аланин 0,2 моль/л;

2-оксаглуторат 2 ммоль/л;

. 0,9% р-р NaCl.

**Приготовление рабочего раствора**

Раствор гидроокиси натрия

В мерной колбе вместимостью 1000 мл растворяют в дистиллированной воде содержимое флакона с Реактивом 3. Раствор устойчив.

Ход определения

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Ингредиенты (мл) | Проба | Контрольный раствор |
| Субстратный раствор АлАТ | 0,5 | 0,5 |
| Физиологический раствор | - | 0,1 |
| Предварительно инкубируют в течении 3 мин при 37°С | | |
| Сыворотка крови | 0,1 | - |
| Перемешивают, инкубируют точно 60 мин при 37°С | | |
| 2,4 - ДНФГ | 0,5 | 0,5 |
| Перемешивают и оставляют стоять 20 мин при температуре (от + 15°С до +25°С) | | |
| 0,4н NaOH | 5,0 | 5,0 |

Перемешивают, выдерживают 10 минут при комнатной температуре. Колориметрируют при длине волны 530 нм в кювете 1х1 мм, против холостой пробы.

**Калибровка**

В обозначенные пробирки вносят пипеткой отдельные растворы в вышеприведенном порядке. После добавления реактива 2 содержимое пробирок перемешивают и через 20 мин добавляют раствор NaOH. Через 10 мин измеряют оптическую плотность раствора №2-5 против раствора №1. строят калибровочный график зависимости оптической плотности от концентрации.

|  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Раствор № | Физиологический раствор (мл) | Реактив 4 (мл) | Реактив 1 (мл) | Реактив 2 (мл) | | Раствор NaOH | Конечная кат. конц. (мккат/л) |
| 1 | 0,10 | 0,50 | - | 0,50 | | 5,00 | 0 |
| 2 | 0,10 | 0,45 | 0,05 | 0,50 | | 5,00 | 0,28 |
| 3 | 0,10 | 0,40 | 0,10 | 0,50 | | 5,00 | 0,56 |
| 4 | 0,10 | 0,35 | 0,15 | 0,50 | | 5,00 | 0,83 |
| 5 | 0,10 | 0,30 | 0,20 | 0,50 | 5,00 | | 1,11 |

**Калибровочный график АсАТ и АлАТ**

**Метод:***Reitman, Frankel ф. Lachema*

*АБхФк-02 - «НПП-ТМ»*

*кювета 1х1, λ=530 нм*

*годен до 31.11.2011*

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| № | Е | Еср | С, мккат/л |
| 1 | 0 | 0 | 0 |
| 2 | 0,085 0,079 0,078 | 0,08 | 0,28 |
| 3 | 0,162 0,153 0,165 | 0,160 | 0,56 |
| 4 | 0,235 0,225 0,230 | 0,230 | 0,83 |
| 5 | 0,310 0,309 0,292 | 0,303 | 1,11 |

ΣЕ=0,773; Е0,300=110 мм;

ΣС=2,78; 1Е = 366,7

F=2,78/0,773=3,596; 1т. 0,08 Е = 0,008х366,7 = 29,3 мм;

F=3,6; 2т. 0,16 Е = 0,16х366,7 = 58,6 мм;

т. 0,23 Е = 0,23х366,7 = 84,3 мм;

т. 0,303 Е = 0,303х366,7 = 1,11 мм.



Масштаб 1 мккат = 100 мм

**Расчет**

По оптической плотности пробы в калибровочном графике находят концентрацию фермента.

**Предупреждение**

Пробы сыворотки крови можно хранить при температуре (от +2 до +8)°С в течении одной недели.

При каталитической концентрации фермента свыше 0,56 мккат/л анализ проводят с сывороткой, разбавленной физиологическим раствором (результат умножить на разведение).

|  |  |
| --- | --- |
| При кат. концентрации фермента | Разведение |
| (0,56 - 0,70) | 3х |
| (0,70 - 0,80) | 5х |
| (0,80 - 1,00) | 10х |
| (1,00 - 1,20) | 30х |
| Свыше 1,20 | 50х |

Повышенное содержание кетоновых тел (в сыворотках диабетиков) вызывает повышение активности ферментов АсАТ и АлАТ. В таких случаях необходимо вычесть из оптической плотности пробы оптическую плотность сывороточного контрольного раствора. Сывороточный контрольный раствор приготавливают точно так же, как и пробу, с той лишь разницей, что сыворотку добавляют в пробирку после реактива 2.

Гемолиз повышает каталитическую концентрацию ферментов АсАТ и АлАТ. Снижение результатов вызывают синтетические моющие средства (сапонаты).

**Референтные величины**

АлАТ (мккат/л) 0,06-0,14

Предельные величины 0,42

**5.4 Метод определения общего белка в сыворотке крови по биуретовой реакции**

**Принцип метода**

Белки реагируют в щелочной среде с сернокислой медью с образованием соединений, окрашенных в фиолетовый цвет (биуретовая реакция).

**Реактивы**

1. Лиофилизированный альбумин для приготовления 5 мл калибровочного раствора (100+2) г/л или 5 мл готового раствора альбумина (100+2) г/л.

2. Биуретовый реактив (концентрированный раствор):

- сульфат меди (15.0+0,75) г/л;

гидроокись натрия (40,0+2) г/л;

калия нитрат тартрат (45,0+2,25) г/л;

йодит калия (25,0+1,25) г/л;

**Оборудование**

1. Анализатор биохимический фотометрический кинетический АБхФк-02 - «НПП-ТМ».

2. Колба мерная емкостью 500 мл, пробирки емкостью 10 мл (ГОСТ1770-74).

. Пипетки емкостью 1; 0,1; и 5 мл (ГОСТ 29227-91).

**Приготовление рабочих растворов**

1. **Калибровочный раствор альбумина**. Если флакон содержит **лиофилизированный альбумин***,* то в него вносят, аккуратно вытащив крышку, точно 4,5 мл физиологического раствора. Флакон закрывают крышкой и, не допуская пены, легкими вращательными движениями руки перемешивают его содержимое до полного растворения. Флакон не взбалтывать. Хранить при температуре от +2°С до +4°С. Раствор содержит (100+2) г/л альбумина. **Если во флаконе раствор, то он готовый для использования.**

2. **Биуретовый реактив.** Содержимое одного флакона с концентрированным раствором биуретового реактива перенести в мерную колбу емкостью 500 мл и довести до метки дистиллированной водой. Потом перенести в полиэтиленовую емкость, которая герметично закрывается. Раствор стабильный.

Ход определения

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Ингредиенты, мл | Калибровочная или исследуемая проба | Холостая проба |
| Калибровочный или исследуемый раствор | 0,02 | - |
| Физиологический раствор | - | 0,02 |
| Биуретовый реактив | 1,00 | 1,00 |

Смешивают, оставляют на 30 мин при комнатной температуре (от + 18°С до +25°С). Измеряют оптическую плотность калибровочной и исследуемой проб против холостой на АБхФк-02 - «НПП-ТМ», длина волны 540 нм. Окрашивание стабильно в течение 60 минут.

**Расчет**концентрации общего белка проводят по формуле:

С= Еиссл /Екалх100. где

С - концентрация общего белка в исследуемой пробе, г/л;

- концентрация общего белка в калибровочном растворе, г/л;

Еиссл - оптическая плотность исследуемой пробы, ед. опт. плотности;

Екал - оптическая плотность калибровочной пробы, ед. опт. плотности.

**Нормальные величины**65-85 г./л.

**Примечания**

1. Биуретовая реакция чувствительна к температуре. Повышение температуры увеличивает скорость развития окраски. Поэтому определение необходимо проводить при одной и той же температуре. Обычно это комнатная температура.

2. Время экспозиции проб в ходе исследования также сказывается на интенсивности окраски реакционной смеси. Поэтому для получения сопоставимых результатов колориметрирование всегда проводится через одинаковые интервалы времени, которые выбирают в промежутке между 30 - 60 мин. экспозиции.

. Содержание белка в стандартном растворе должно быть не меньше 70 г./л.

. При содержании белка в сыворотке крови больше 100 г./л сыворотку разводят физиологическим раствором, а результаты умножают на коэффициент разведения.

. Все реактивы готовят на прокипяченной дистиллированной воде.

**Заключение**

Острый вирусный гепатит В передается преимущественно парентеральным путем (с продуктами крови, при использовании инфицированных шприцев и т.д.), при половых контактах, а также вертикально (от матери ребенку). Инкубационный период может колебаться в зависимости от дозы возбудителя. От момента заражения до развертывания клинических проявлений может пройти 160 дней. НВsAg обнаруживается в сроки от 6 до 43 дней с момента инфицирования. Часто наблюдается безжелтушное течение заболевания. Выздоровление отмечается более чем в 95% случаев. Однако острый вирусный гепатит В следует считать потенциально опасным, поскольку возможны переход в хроническую форму, развитие вирусоносительства и возникновение фульминантного гепатита.

Диагноз предположительно ставится на основании клинической картины и повышения уровня аминотрансфераз и подтверждается более чем у 80% больных с помощью определения НВsAg. У остальных пациентов ВГВ как этиологический фактор заболевания устанавливается при выявлении высокого титра анти-НВс-IgM.

Этиотропного лечения впервые возникшего острого гепатита В в настоящее время не существует.

В отличие от вирусного гепатита А, при гепатите В излечение наблюдается не у всех больных. О хроническом течении можно думать при сохранении маркеров гепатита В (НВsAg, НВеAg, ВГВ-ДНК) более 3 месяцев с начала острого заболевания.

Огромное значение придают профилактике гепатита В с помощью вакцинации. Отдают предпочтение симультанной (активно-пассивной) вакцинации. Эта вакцинация показана во всех ситуациях, связанных со случайной инокуляцией материала, инфицированного ВГВ, а также новорожденным, родившимся у НВsAg-положительных матерей.

Большое значение приобретает активная защитная вакцинация всех работников здравоохранения, а также тех, кто профессионально контактирует с кровью или ее продуктами.

**Список литературы**

1. Горячковский О.М. «Клиническая биохимия» /Изд. 2-е, вып. и доп. - Одесса: Асторопринт, 1998. - 608 с.

2. Еналеева Д.Ш., Фазылов В.Х., Созинов А.С. Хронические вирусные гепатиты В и С. Что надо знать о болезни? - Казань: МЕДпрессинформ, 2003. - 144 с.

. Лобзин Ю.В., Жданов К.В., Волжанин В.М., Гусев Д.А. Вирусные гепатиты: клиника, диагностика, лечение. - СПб: ООО «Издательство ФОЛИАНТ», 2003. - 192 с.

. Белозеров Е.С., Иоанниди Е.А. Вирусный гепатит. - М: АПП «Джангар», 2004. - 160 с.

. Майкер К.-П. Гепатит и последствия гепатита: Практич. рук.: Пер. с нем./ Под ред. А.А. Шептулина. - М.: ГЭОТАР МЕДИЦТНА, 2000. - 432 с.

. Маджидов В.М., Шапунова И.И. Диагностика и исходы вирусного гепатита. Т: Медицина, 1979. - 127 с.

. Неменова Ю.М. Методы клинических лабораторных исследований. М: «Москва», 1967. - 445 с.

. Базарнова М.А. Руководство по клинической диагностике. Ч. 3: Клиническая биохимия. - К: Вища шк. Головное изд-во, 1986. - 279 с.

. Под редакцией проф. Е.С. Кетиладзе Вирусный гепатит. Австралийский (SH - HB) антиген при вирусном гепатите / сборник трудов. - М - 1973. -295 с.

. Камышников В.С., Клинико-биохимическая лабораторная диагностика: Справочник: В 2т. Т.1-2-е изд. - Мн: Интерпрессервис, 2003 - 495 с., ил.

. Камышников В.С., Клинико-биохимическая лабораторная диагностика: Справочник: В 2т. Т.2-2-е изд. - Мн: Интерпрессервис, 2003 - 463 с., ил.

. Скляров О.Я., Фартушок Н.В., Сойка Л.Д., Смачило І.С., Біологічна хімія з біохімічними методами дослідження: підручник для студ. ВМНЗ І-ІІ рівня акредитації. - К: Медицина, 2009. - 352 с.

13. Камышников В.С., О чем говорять медицинские анализы: справ. пособие - 3-е изд. - Минск: Беларус. наука, 2001 - 189 с.

. Цыганенко А.Я., Жуков В.И., Мясоедов В.В., Завгородний И.В., Клиническая биохимия: пособие - М: Триада-Х, 2002 - 504 с.