

ЗАСТОСУВАННЯ ШВИДКИХ ТЕСТІВ ДЛЯ ДІАГНОСТИКИ ВІРУСНИХ ГЕПАТИТІВ В І С

**М.Д. Чемич, В.В. Захлєбаєва, Н.І. Льїна, В.В. Рябіченко,
І.В. Кривогуз**

Сумський державний університет, м. Суми

У статті висвітлені методи діагностики вірусних гепатитів швидкими імунохроматографічними тестами. Отримані результати були підтверджені ІФА. Доведена висока чутливість і специфічність швидких тестів. Зроблено висновок про доцільність їх використання як на догоспітальному етапі в поліклініці, так і в умовах стаціонару.

ВСТУП

Вірусні гепатити (ВГ) належать до найбільш поширених інфекційних захворювань. На земній кулі вірусом гепатиту С (ВГС) інфіковано майже півмільярда осіб. Наприклад, у структурі хронічних гепатитів у Росії 29,2 % становить хронічний гепатит В (ХГВ), 33,3 % – хронічний гепатит С (ХГС), 16,7 % – ХГВ + С, 4,1 % – ХГВ + Д, 16,7 % – гепатит нез'ясованої етіології [1]. На жаль, в Україні цей показник встановити неможливо внаслідок відсутності офіційної реєстрації етіологічної структури хронічних гепатитів у дітей і дорослих.

Актуальність проблеми вірусних гепатитів, зокрема ВГС, зумовлена схильністю до багаторічного персистування вірусу і латентного перебігу хвороби [2]. Відносно в'ялоперебігаючий процес не виключає можливості переходу в цироз і гепатоцелюлярну карциному.

У комплексній діагностиці ВГ, крім клініко-епідеміологічних даних, використовується поглиблене лабораторне обстеження хворих. Це, насамперед, визначення активності АлАТ, АсАТ, коефіцієнта де Рітиса, тимолової проби, протромбінового індексу, активності лужної фосфатази, ГГТП, загального білірубину, тобто показників функціонального стану печінки. Однак біохімічні зміни не є специфічними критеріями діагностики ВГ. Вони свідчать лише про пошкодження печінки. Специфічним методом ранньої діагностики ВГ є виявлення маркерів гепатитів у сироватці крові методом імуноферментного аналізу (ІФА). Оскільки це скринінговий метод діагностики, він доповнюється полімеразною ланцюговою реакцією (ПЛР), яка дозволяє встановити вірусну реплікацію, що важливо для прогнозу або своєчасної етіотропної терапії ВГ.

Для виконання зазначених методів потрібні добре обладнані лабораторії, коштовне обладнання, кваліфікований персонал, що складає проблему у територіально віддалених районах. Нерідко бувають ситуації, які вимагають негайного уточнення діагнозу безпосередньо біля ліжка хворого. Для цього необхідні чутливі та специфічні методи діагностики інфекційних хвороб, але прості у виконанні. Цим вимогам відповідають швидкі тести для визначення маркерів вірусів гепатитів у суцільній крові, сироватці або плазмі. Як свідчить світовий досвід, їх необхідно використовувати для діагностики тих інфекційних хвороб, які є пріоритетними для охорони здоров'я: вірусні гепатити, ВІЛ-інфекція/СНІД, туберкульоз та ін. [3].

Швидкі тести дозволяють отримати результат дослідження протягом 10–15 хвилин. Це досить прості у використанні діагностичні набори, які є альтернативою використанню класичних тест-систем. Вони набувають особливого значення, коли потрібно швидко отримати результат. Швидкі тести базуються на тих самих принципах імунологічних реакцій, що й класичні ІФА тест-системи. Їм притаманна висока чутливість і специфічність. Їх можна використовувати як для поодиноких досліджень, так і у великому потоці, коли необхідно швидко, вірогідно отримати результат.

За типом імунологічної реакції швидкі тести поділяються на декілька груп. Найпоширенішими є імунохроматографічні тести, при використанні яких досліджуваний зразок наносять на поверхню твердої фази–мембрани з попередньо нанесеним на ній реагентом, а результат аналізу має вигляд забарвленої смуги [4, 5].

В основі імунохроматографічного аналізу (ІХА) лежить специфічна взаємодія антигенів і антитіл на хроматографічній мембрані після змочування її рідиною досліджуваного зразка. Така взаємодія відбувається внаслідок дифузного переміщення забарвленого колоїдним золотом індикаторного імунного компонента ІХА, який заздалегідь нанесений на мембрану, та антигенів або антитіл досліджуваного зразка крові після нанесення його на мембрану. Якщо зразок містить досліджувані антигени чи антитіла, останні будуть взаємодіяти з жорстко іммобілізованими реагентами на мембрані, внаслідок чого утворюється забарвлена тестова смуга.

Введений у тест–систему ”із залишком” індикаторний забарвлений імунний компонент дифундує по хроматографічній мембрані далі від місця проявлення специфічної імунної реакції і зупиняється знов у контрольній смугі внаслідок імунологічної взаємодії з жорстко іммобілізованим там імунним компонентом іншої специфічності. Забарвлення контрольної смуги свідчить про те, що дослідження було проведено коректно [6].

Порядок проведення аналізу дуже простий і не потребує професійних навичок. Тест оцінюється як позитивний за наявності двох чітких забарвлених смуг червоного кольору у зонах Т і С, як негативний – за наявності однієї чіткої забарвленої смуги червоного кольору в зоні С.

Швидкі тести, що використовуються для діагностики вірусних гепатитів і ВІЛ–інфекції, мають ряд обмежень. По–перше, вони застосовуються тільки як методи якісної діагностики. По–друге, якщо у зразках досліджуваного матеріалу антигени або антитіла наявні у кількості, яка нижче чутливості методу, то вони не виявляються. Вірогідна чутливість швидких тестів дорівнює 99 %, відносна їх специфічність близька 99 %. І нарешті, позитивний результат не є остаточним і для встановлення кінцевого діагнозу повинен бути підтверджений методами ІФА, ПЛР. Крім того, будь–який результат повинен оцінюватися, враховуючи клінічну картину хвороби та інші лабораторні показники [7].

МЕТА РОБОТИ

Встановити чутливість та специфічність швидких тестів СІТО TEST при гепатитах вірусної етіології.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ

У дослідженні використовувалися швидкі тести виробництва ACON Laboratories (США). Одночасно з експрес–методом проводилося дослідження крові методом ІФА на імунологічному аналізаторі „Мультискан”. Хворі на гепатити або особи з групи ризику, кров.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

У клініці інфекційних хвороб, що знаходиться у Сумській обласній інфекційній клінічній лікарні ім. З.Й. Красовицького, швидкі тести для діагностики вірусних гепатитів В і С застосовуються протягом останніх двох років. Показання до використання СІТО TEST були такі:

- обстеження на інфікування вірусами ВГВ і ВГС у групі ризику (особи, що мали оперативні втручання та гемотрансфузії, споживачі наркотиків, студенти–медики тощо);
- диференціальний діагноз ВГ з жовтяницями іншого походження;
- скринінгове обстеження на віруси гепатитів осіб, що виїжджають за кордон, військовослужбовців, медичних працівників тощо.

Всього обстежено 505 осіб. На першому етапі проводилися дослідження, метою яких було дати оцінку можливості використання для діагностики вірусних гепатитів В і С швидких тестів. Обстежено 20 хворих на хронічні вірусні гепатити, їх середній вік становив $(27,16 \pm 1,99)$ року, з них 10 осіб хворіли на ХВГВ, 10 – на ХВГС. Контрольну групу склали 10 практично здорових осіб у віці $(29,02 \pm 2,19)$ року.

Обстеженим, включаючи контрольну групу, діагностика HBV і HCV-інфекцій проводилася за допомогою швидких тестів СІТО TEST для виявлення поверхневого антигену вірусу гепатиту В (HBsAg) та антитіл до HCV (anti-HCV). Дослідження проводилося методом швидкого ІХА. Краплю крові хворого наносили в лунку на касеті, через 15 хвилин з'являлися дві чіткі лінії червоного кольору, що свідчило про позитивний результат. У всіх обстежених хворих на ВГВ і ВГС результат був позитивним.

Паралельно швидким тестам відповідні маркери (HBsAg і anti-HCV) досліджувалися ІФА. В усіх випадках відмічався збіг результатів ІФА та СІТО TEST.

В осіб контрольної групи результати обстеження за допомогою швидких тестів були негативними.

Групу ризику (79 осіб) склали студенти та лікарі-інтерни Медичного інституту Сумського державного університету у віці $(21,07 \pm 1,71)$ року, які за допомогою швидких тестів були обстежені на HBsAg. Жодного випадку позитивних результатів не було.

У решти обстежених (396 чоловік у віці $(28,36 \pm 2,28)$ року) методом СІТО TEST позитивний результат був у 31 (7,8 %) випадку, з них у 16 (4 %) осіб виявлений HBsAg, у 15 (3,8 %) – anti-HCV. При додатково проведеному обстеженні методом ІФА крові пацієнтів з позитивним результатом у 2 (6,4 %) осіб результат виявився негативним (1 – на HBsAg, 1 – на anti-HCV).

Здійснено порівняння результатів скринінгового обстеження на маркери вірусних гепатитів (HBsAg, anti-HCV) методом ІФА за період з 2003 по 2006 р. із отриманими результатами із застосуванням СІТО TEST. Серед населення Сумської області було проведено 231966 досліджень методом ІФА. На HBsAg обстежено 139816 осіб, на anti-HCV – 92150. Позитивними виявилися результати обстеження у 8860 випадках, що становило 3,8 %. Відсоток позитивних результатів обстеження на HBsAg становив 3 %, на anti-HCV – 5,1 %. У групі ризику (медичні працівники, донори, вагітні) кількість позитивних результатів на HBsAg і anti-HCV становила у середньому 3,9 %.

Таким чином, результати скринінгу із застосуванням швидких тестів мало чим відрізнялися від аналогічних, отриманих методом ІФА.

ВИСНОВКИ

- 1 Швидкі тести СІТО TEST мають високу чутливість та специфічність.
- 2 Простота у використанні, швидке отримання результату дослідження протягом кількох хвилин дозволяють використовувати їх у первинних ланках охорони здоров'я (фельдшерсько-акушерських пунктах), поліклініках та стаціонарах.
- 3 Застосування швидких тестів СІТО TEST для діагностики вірусних гепатитів допомагає своєчасно встановити діагноз біля ліжка хворого, призначити адекватне лікування і за необхідності здійснити протиепідемічні заходи.

SUMMARY

USING RAPID TESTS IN DIAGNOSTICS OF VIRAL HEPATITIS B AND C

*N.D. Chemich, V.V. Zahlebayeva, N.I. Ilina, V.V. Ryabichenko, I.V. Krivoguz.
Sumy State University*

The work was done in order to show good opportunities for using rapid immunochromatographic tests for diagnostics of viral hepatitis B and C. The results that were received by rapid tests has been revealed. It is shown, that rapid tests have high sensitivity and specificity. Also it is shown, that immunochromatographic rapid test can be used both at a prehospital stage, and in hospitals.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Крамарев С.А. Хронический вирусный гепатит С у детей // Клінічна імунологія. Алергологія. Інфектологія. – 2008. – № 5 (16). – С. 12–15.
2. Соринсон С.Н. Вирусные гепатиты в клинической практике. – Санкт–Петербург: Теза. – 306 с.
3. Слободяник М.Я. Досвід застосування швидких тестів на антитіла до ВІЛ в умовах лікувальних закладів Київської області // Репродуктивное здоровье женщины. – 2006. – № 2(27). – Ч. II. – С. 172–174.
4. Ширококов В.П., Дзюблик І.В., Вороненко С.Г. та ін. Застосування швидких тестів у лабораторній діагностиці інфекційних хвороб: Методичні рекомендації. – Київ, 2006. – 33 с.
5. Дзюблик І.В., Ковалюк О.В. Ефективність швидких імунохроматографічних тестів у діагностиці ВІЛ-інфекції в Україні // Лабораторна діагностика. – 2006. – № 1(35). – С. 39–42.
6. Малий В.П. Досвід застосування швидких тестів для діагностики вірусних гепатитів В і С // Лабораторна діагностика. – 2005. – № 3(33). – С. 57–58.
7. Незгода І.І., Боднарюк О.В. Досвід застосування у педіатричній практиці імунохроматичного аналізу для покращання діагностики гострих кишкових інфекцій у дітей // Лабораторна діагностика. – 2006. – № 4(38). – С. 31–33.

Чемич М.Д., д-р мед. наук, професор;

Захлебасва В.В., асистент;

Льїна Н.І., доцент;

Рябіченко В.В., асистент;

Кривогуз І.В., магістрант

Надійшла до редакції 24 жовтня 2008 р.