

СМЯТОЩА  
ИЩЕ КЪМ

1  
2001



ВОЗІАНОВА Ж.І., КОРЧИНСЬКИЙ М.Ч.

Національний медичний університет, м. Київ  
кафедра інфекційних хвороб,

зав.кафедрою — член-кор. АМН України, професор Возіанова Ж.І.

УДК: 616.36-002-073-02

## ЕКСПРЕС-ДІАГНОСТИКА ВІРУСНОГО ГЕПАТИТУ В

ключові слова:

*вірусний гепатит В, експрес-діагностика*

Актуальною для України залишається проблема вірусного гепатиту В (ВГВ). Це обумовлено надзвичайним поширенням хвороби в світі: за даними ВООЗ, близько 2 млрд. людей мають ознаки перенесеної або наявної НВУ-інфекції, 400 мільйонів з них є хронічними носіями вірусу гепатиту В (НВУ) і мають в 200 разів більший ризик розвитку цирозу печінки та гепатокарциноми [4, 5]. Від захворювань печінки, обумовлених НВУ, в світі щорічно помирає 1-2 млн людей. Серед причин смерті ХВГВ займає 9-е місце безпосередньо після хронічних захворювань легень, значно випереджаючи СНІД [2,3]. Особливо високою є ураженість ВГВ медиків [1, 5]. Так, у 1991 - 95рр. серед медичних працівників в Україні захворюваність на ВГВ в 2,3 - 3,7 разів була вищою, ніж решти дорослого населення, а хронічне носійство вірусу гепатиту В — в 2 рази частіше, ніж у донорів [1]. Ймовірно, що переважна кількість з них є хворими на ХВГВ.

Значне поширення ХВГВ, “здорового носійства НВsAg”, збереження високого рівня захворюваності гострим ВГВ обумовлюють актуальність вдосконалення специфічної діагностики цієї інфекції. Одним з напрямків зменшення ризику інфікування медиків НВУ є його своєчасна діагностика у пацієнтів. Це підвищує актуальність експрес-діагностики ВГВ.

Нерідкі випадки, коли виникає потреба швидкої специфічної верифікації діагнозу ВГВ. Оперативне застосування сучасних методів біохімічного, ультразвукового обстеження хворих з підозрою на ВГ дозволяють вже за кілька годин підтвердити або відкинути цей діагноз. Але етіологічна розшифровка його за допомогою тест-систем, що зараз широко використовуються в Україні, триває щонайменше кілька днів. Це створює відповідні проблеми як епідеміологічного, так і лікувального характеру.

Зберігається значний відсоток інфікованих ВГВ в медичних установах різного профілю [1, 4]. Це пояснюється насамперед недостатньо ретельним або неоперативним обстеженням хворих на маркери ВГВ перед госпіталізацією. Але якщо при плановій госпіталізації цю проблему певною мірою вирішує більш широке використання вже існуючих тест-систем для діагностики ВГВ, то при виникненні потреби в негайній госпіталізації, при невідкладному оперативному втручанні або у наданні невідкладної допомоги необхідні тест-системи для експрес-діагностики ВГВ. Швидке визначення маркерів ВГВ, з одного боку, зменшує кількість діагностичних помилок, а з іншого — дозволяє запобігати інфікуванню ВГВ як медперсоналу, так і інших хворих.



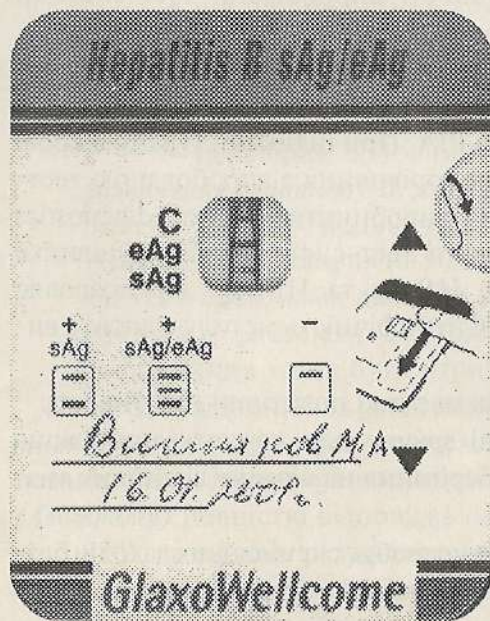
У період з 3 грудня 1999 р. по 10 березня 2000 р. на кафедрі інфекційних хвороб Національного медичного університету ім. О.О.Богомольця (на базі Інфекційного центру Центральної міської клінічної лікарні м. Києва), згідно з рішенням КНМТ МОЗ України від 27 жовтня 1999 року (Протокол № 10) проведені медичні випробування "Тест-системи для швидкого визначення гепатиту В " Hepatitis B s Ag/ e Ag (Whole Blood)", розробленого фірмою AMRAD ICT(Австралія), за пред'явленням її офіційного представника в Україні — Представництва компанії "GlaxoWellcome", відповідно до програми медичних випробувань, затвердженої Комітетом з Нової Медичної Техніки МОЗ України.

Наводимо основні принципи методики дослідження:

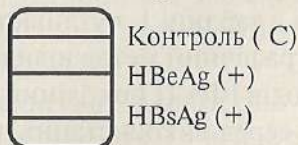
- основу тест-системи становить імунохроматографічний метод визначення HBsAg та HBeAg в крові;
- набір антитіл поєднується з колоїдним золотом і вміщується в рожеву частину рожево-білої подушечки;
- на першому етапі зразок крові наноситься на нижню частину рожево-білої подушечки, при цьому в більшості випадків червоні клітини крові залишаються в білій частині подушечки, і сироватка просувається вперед до рожевої частини подушечки, даючи змогу всім HBsAg та HBeAg, які є, зв'язуватись з відповідними антитілами, відміченими колоїдним золотом;
- інші антитіла, здатні захоплювати попередньо утворені комплекси, розташовані в двох лініях, що перетинають мембрану Теста (Мал. 1);
- коли планшетку закривають, зразок крові і відмічені антитіла на рожевій частині подушечки контактують з мембраною, просуваються вздовж її, перетинаючи лінії з захоплюючими антитілами;
- у позитивних зразках комплекси, що містять HBsAg та HBeAg разом з відповідними відміченими колоїдним золотом антитілами, захоплюються спорідненими до цих комплексів антитілами на мембрані Теста і формують рожеву лінію (Мал. 1.1);
- в негативних зразках не формуються комплекси з відміченими колоїдним золотом антитілами, без їх наступного зв'язування на відповідних лініях мемрани, рожевої лінії немає, є лише відмітка про те, що "працює" контроль (Мал. 1.3);
- позитивний результат отримують протягом кількох хвилин;
- негативний результат остаточно враховується через 15 хвилин.

Мал 1

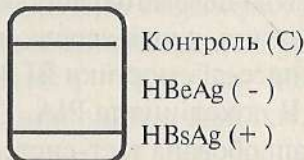
### Інтерпретація результатів Тесту для швидкого визначення гепатиту В



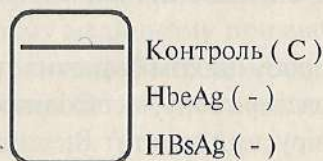
1.1. HBsAg — позитивний, HBeAg — позитивний.



1.2. HBsAg — позитивний, HBeAg — негативний.



1.3. HBsAg — негативний, HBeAg — негативний.





Обсяг випробувань з використанням цих тест - систем у клініці складав обстеження 70 хворих: з них — 35 на ВГВ, 13 — на ВГС, 10 — на мікст- інфекцію ВГВ+ВГС, 7 — на ВГА, та 5 — на вірусний гепатит, етіологію якого встановити не вдалось. Всі перераховані хворі обстежені одночасно як за допомогою апробованих тест-систем, так і за допомогою ІФА з використанням тест-систем “ Monolisa Ag HBs”, “ Monolisa HBeAg/ Ab” виробництва “Sanofi diagnostics Pasteur ” та тест-систем “ІФА-НВВ-стрип” виробництва “Діапроф Мед” або “Диагностические системы, Н.Новгород” для визначення HBsAg, HBeAg. У випадках розбіжностей результатів визначення HBsAg , сироватки крові додатково обстежували в РІА.

Обстежено 13 хворих вірусним гепатитом С, діагноз якого підтверджено наявністю в крові anti-HCV, anti-HCV cor IgM або anti-HCV NS 4 - 5. Апробована тест-система дала у всіх цих хворих негативні результати визначення HBsAg, HBeAg, що повністю співпало з результатами ІФА.

У 5 хворих з клініко-біохімічними ознаками гострого вірусного гепатиту діагноз не було верифіковано жодним з використаних для обстеження маркерів ВГА, ВГВ, ВГД, ВГС з застосуванням ІФА та РІА. Апробована тест-система в усіх цих хворих також дала негативні результати.

У 33 з 35 хворих з підтвердженим специфічними маркерами діагнозом ВГВ співпали результати індикації HBsAg за допомогою апробованої тест- системи та ІФА з використанням тест- систем виробництва Sanofi diagnostics Pasteur (у 2 з них ІФА з використанням тест-систем виробництва “Діапроф” було негативним, але HBsAg виявився позитивним у РІА). За допомогою ІФА з використанням тест-систем виробництва “Sanofi diagnostics Pasteur” HBeAg був знайдений у 18 з 35 обстежених хворих на ВГВ, тоді як за допомогою апробованої тест-системи — у 12. У 6 хворих з отриманими розбіжностями досліджень в ІФА та за допомогою апробованої тест-системи спостерігалась дуже низька концентрація HBeAg.

Діагноз ВГА підтверджено у 7 хворих позитивними в крові anti-HAV IgM (ІФА). Апробована тест-система дала у всіх цих хворих негативні результати, як і вищепераховані тест-системи ІФА для визначення HBsAg, HBeAg. Додатково вивчена чутливість апробованих тест-систем при обстеженні 10 хворих на вірусний гепатит-мікст ВГВ+ВГС , в яких кількість HBsAg в крові набагато нижча, ніж при гострому ВГВ (у всіх HBsAg +, HBeAg- за даними ІФА). У всіх них HBeAg (-) був і за даними апробованої тест-системи, за допомогою якої HBsAg було знайдено у 6 з них. У решти він був у низькій концентрації і визначався лише в РІА та в ІФА з використанням тест-систем “Sanofi diagnostics Pasteur” при негативних результатах обстеження за даними тест-систем “Діапрофмед”.

Результати визначення чутливості та специфічності апробованої тест-системи порівняно з іншими наведено у таблиці 1.

Як свідчать дані, наведені в таблиці 1, чутливість апробованої тест-системи, основу якої становить імунохроматографічний метод швидкого визначення HBsAg та HBeAg, є достатньою, близькою до методів ІФА II покоління та РІА. При індикації HBsAg в крові достовірно більшу чутливість серед використаних для порівняння з апробованою тест-системою мала лише тест-система ІФА II покоління виробництва “Sanofi diagnostics Pasteur”. Але при цьому суттєвою перевагою апробованої тест-системи є більш швидке отримання результату обстеження крові хворих на HBsAg та HBeAg, що дозволяє розцінювати її як систему експрес-діагностики ВГВ. Специфічність методу є досить високою і відповідає такій ІФА II покоління та РІА.

**Висновки:** Таким чином, апробована тест-система має такі позитивні властивості:

- всі елементи тест-системи розташовані зручно для користування, вона компактна, не потребує спеціальних умов для зберігання на відміну від інших аналогічних тест-систем ;
- експлуатація виробу цілком безпечна і не потребує спеціальних заходів безпеки, крім звичайних застережень, необхідних при роботі з зразками крові, отриманими від хворих на вірусний гепатит В;



Порівняння результатів досліджень крові на HBsAg та HBeAg  
за допомогою різних тест-систем

| Результати дослідження маркерів ВГВ в крові: | Кількість хворих з відповідними результатами обстеження на HBsAg за даними порівнюваних тест-систем: |            |                              |            |   |            |
|--|--|------------|------------------------------|------------|---|------------|
|  | Апробованої (AMRAD ICT).   |            | «Sanofi diagnostics Pasteur» |            | «Діапроф Мед» та «Диагностические системы», Н. Новгород |            |
|  | Абс.   | %          | Абс.                         | %          | Абс.  | %          |
| HBsAg + (позитивний)                         | 40   | 57,1       | 45                           | 64,3*      | 41  | 58,5       |
| HBsAg - (негативний)                         | 30   | 42,9       | 25                           | 35,7*      | 29  | 41,5       |
| <i>Всього обстежено:</i>                     | <i>70</i>  | <i>100</i> | <i>70</i>                    | <i>100</i> | <i>70</i>   | <i>100</i> |
| HBeAg + (позитивний)                         | 12   | 17,1       | 18                           | 25,7       | -   | -          |
| HBeAg - (негативний)                         | 58   | 72,9       | 52                           | 74,3       | -   | -          |
| <i>Всього обстежено:</i>                     | <i>70</i>  | <i>100</i> | <i>70</i>                    | <i>100</i> | -   | -          |

Примітка: \*- позначена достовірна відмінність ( $P < 0,05$ ) порівняно з апробованою тест-системою.

- суттєвою перевагою тест-системи є можливість її швидкого переміщення в медичному закладі та поза його межами і проведення досліджень безпосередньо біля ліжка хворого;

- особливості упаковки кожного комплекту апробованої тест-системи дають змогу для дезінфекції та полегшують як зберігання, так і транспортування виробу, що має стерильні скарифікатори та спеціальні капіляри одноразового використання без необхідності додаткової стерилізації;

- під час медичних випробувань не знайдено ніяких недоліків конструкції і якості виготовлення, труднощі під час експлуатації не виникали, тест-системи прості для використання і не потребують спеціальних навичок медперсоналу;

- перевірка основних технічних параметрів *тест-системи для швидкого визначення гепатиту В*, що обумовлюють її діагностичні якості, переконливо довела їх високу специфічність та достатню чутливість у визначенні HBsAg та HBeAg в крові хворих на ВГВ порівняно з сертифікованими в Україні відповідними тест-системами для ІФА виробництва «Sanofi diagnostics Pasteur», «Диагностические системы, Н.Новгород», «Діапроф Мед». При цьому результат дослідження може бути отриманий значно швидше, без використання додаткового обладнання та реактивів.

Отже, на основі проведених медичних випробувань можна стверджувати, що апробована «Тест-система для швидкого визначення гепатиту В» виробництва «AMRAD ICT» (Австралія) повністю відповідає своєму медичному призначенню — експрес-діагностиці ВГВ, при цьому результати високоспецифічні, а метод досить чутливий.

Протипоказань до застосування апробованої тест-системи в клінічній практиці під час проведених випробувань не знайдено.



**Рекомендації з використання: "Тест-системи для швидкого визначення гепатиту В" виробництва "AMRAD ICT" (Австралія)** можна рекомендувати до широкого використання в медичній практиці для експрес-діагностики вірусного гепатиту В з застосуванням їх при обстеженні хворих у поліклінічних умовах при направленні в стаціонар, при обстеженні в умовах стаціонарів хірургічного профілю, особливо при необхідності надання невідкладної допомоги, негайного обстеження донорів.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Гураль А.Л., Мариевский В.Ф., Сергеева Т.А. Повышение эффективности лабораторного контроля крови доноров на маркеры гепатитов В, С и ВИЧ инфекции //Лабораторная диагностика.— 1999. — № 3. — С.26 - 31.
2. Майер К.-П. Гепатит и последствия гепатита: Практич.рук.: Пер.с нем./Под ред. А.А. Шептулина. — М.: Гэотар Медицина, 1999. — 432 с.
3. Шерлок Ш., Дули Дж. Заболевания печени и желчных путей : Практич. рук.: Пер. с англ. /Под ред. З.Г. Апросиной, Н.А. Мухина. — М.: Гэотар. Медицина, 1999. —864 с.
4. Лобзин Ю.В., Жданов К.В., Волжанин В.М. Вирусные гепатиты. — С-Пб.: "Издательство Фолиант", 1999. — 104 с.
5. Радченко В.Г., Шабров А.В., Нечаев В.В. Хронические заболевания печени. — С-Пб.: Изд. "Лань", 2000. — 192 с.

\*\*\*

УДК: 616.36-002-073-02

*Возианова Ж.И., Корчинский Н.Ч.*

#### **Экспресс-диагностика вирусного гепатита В**

*Приведены результаты апробации тест-систем для экспресс-диагностики вирусного гепатита В производства фирмы AMRAD ICT (Австралия). Ее чувствительность и специфичность проверены в сравнении с ранее сертифицированными в Украине тест-системами ИФА 2 поколения, а также в сравнении с РИА при обследовании 70 больных вирусными гепатитами различной этиологии. Даны рекомендации по практическому применению апробированных тест-систем.*

UDK: 616.36-002-073-02

*Vozianova J. I., Korchinsky N.Ch.*

#### **Express train - diagnostics virus hepatitis B**

*The results of approbation of tests - systems for express train - diagnostics virus hepatitis B. In manufactures of firm AMRAD ICT (Australia) are given. Its(her) sensitivity and specificity are checked up in comparison with the tests - systems, earlier certificated in Ukraine, IFA 2 generations, and also in comparison with RIA at inspection 70 patients virus hepatitis various ethiology. The recommendations for practical application this of tests - systems are given.*