

© Л. К. Беньковська, Т. А. Сергеева*

УДК 616. 578. 833. 2-022. 1:616-035. 7

Л. К. Беньковська, Т. А. Сергеева*

ПОШУКОВИЙ СКРИНІНГ НА МАРКЕРИ ІНФІКУВАННЯ HCV ТА ЧАСТОТА ХИБНО ПОЗИТИВНИХ РЕЗУЛЬТАТІВ ТЕСТУВАННЯ

Державний науковий заклад «Науково-практичний центр профілактичної і клінічної медицини ДУС України» (м. Київ)

*ДУ «Інститут епідеміології та інфекційних хвороб ім. Л. В. Громашевського НАМН України» (м. Київ)

Зв'язок роботи з науковими програмами та планами. Робота виконувалась в межах заочної аспірантури та підготовки дисертації за темою «Вплив антигенної мімікрії на ефективність серологічної діагностики гепатиту С» на базі ДУ «Інститут епідеміології та інфекційних хвороб ім. Л. В. Громашевського НАМН України» у рамках наукової тематики лабораторії епідеміології парентеральних вірусних гепатитів та ВІЛ-інфекції «Приховані форми гепатитів В і С у донорів крові та їх епідеміологічне значення» (№ держреєстрації 011U000049) та лабораторії експериментальної хіміотерапії вірусних інфекцій «Молекулярні основи конструювання профілактичних та лікувальних антивірусних препаратів» (№ держреєстрації 0111U002004).

Вступ. З моменту виявлення збудника інфекції і до цього часу гепатит С (ГС) залишається однією з найактуальніших проблем в інфектології. За даними сучасних досліджень, стало очевидним, що серед гепатотропних вірусів вірус ГС (HCV) займає особливе місце не тільки через значну поширеність у світі та важливу роль у розвитку хронічних захворювань печінки, але й позапечінкових уражень, спектр яких доволі широкий. На сьогодні хронічну HCV-інфекцію розглядають не тільки як захворювання печінки, а швидше за все – як системний патологічний процес, генералізовану інфекцію, в патогенезі якої окрім гепатотропізму, суттєву роль відіграє також тканинний тропізм HCV [1,2]. Інфікування HCV рідко призводить до розвитку гострого ГС, котрий перебігає в маніфестованій (жовтяничній) або частіше в латентній (безжовтяничній) формах, і співвідношення клінічно виражених до безсимптомних форм складає 1:8. За даними багатьох досліджень, деякі з інфікованих HCV з гострою формою інфекційного процесу осіб одужують спонтанно, і у систематизованій оглядовій роботі [19] показано, що рівень спонтанного вірусного кліренсу оцінюють у доволі широких межах: 10–50%, 10–15%, 17–25% та ін., що обумовлено цілим рядом факторів. У решти спостерігається стійка віремія, персистенція збудника в органах і тканинах, що обумовлює розвиток хронічного ГС, котрий тривалий час може залишатися нерозпізнаним, в середньому у 70–85% інфікованих осіб [14]. Тому одним з важливіших напрямків боротьби з ГС є своєчасна діагностика, виявлення специфічних маркерів та самого факту інфікування HCV, призначення в разі необхідності специфічної

терапії та контроль її ефективності. Це дуже складна проблема, оскільки діагностика ГС на початкових стадіях інфекційного процесу є скоріш винятком, ніж правилом.

Специфічна лабораторна діагностика ГС базується на серологічних, молекулярно-біологічних та інших методах досліджень, але першим кроком в етіологічній розшифровці діагнозу ГС є застосування методів, спрямованих на виявлення антитіл до збудника (анти-HCV) за допомогою імуноферментного аналізу (ІФА) [18]. В тест-системах ІФА для визначення анти-HCV використовують білки, кодовані найбільш консервативними ділянками генному HCV, з яких обов'язковими є core, NS3, NS4 та NS5, котрі, як правило представлені у діагностичних наборах усіх виробників. Мета первинних (скринінгових) досліджень полягає у виявленні сумарних анти-HCV (класу IgG) високочутливими тест-системами ІФА 3-го покоління [18,24]. Можливість отримання хибно позитивних результатів (ХПР) скринінгу обумовлює необхідність проведення додаткового дослідження з використанням підтверджувальних тестів, оскільки, володіючи високими показниками чутливості і специфічності, сучасні тест-системи ІФА все ж таки не можуть гарантувати 100-відсоткову точність отриманих результатів. ХПР при серологічній діагностиці ГС у більшості випадків обумовлені неспецифічною міжбілковою взаємодією імуноглобулінів сироватки крові та компонентів імуносорбенту тест-систем. За даними літератури, ХПР при діагностиці ГС методом ІФА можуть бути обумовлені наявністю аллоантитіл, що виникають при трансфузії, трансплантації, вагітності, аутоімунних порушеннях, алкогольних гепатитах, онкологічних захворюваннях, після вакцинації проти кору, сказу, грипу гепатиту В та ін. [11,21]. В Україні проведення підтверджувальних досліджень наявності анти-HCV не регламентоване, і взагалі можна констатувати, що на сьогодні існують суттєві недоліки у специфічній діагностиці ГС в амбулаторно-поліклінічних закладах.

Мета дослідження – оцінити частоту ХПР при виявленні анти-HCV в сироватках крові осіб з різною хронічною патологією; визначити специфічність дослідження; встановити частоту розходжень в результатах первинного скринінгу на наявність анти-HCV за допомогою різних тест-систем ІФА.

Об'єкт і методи дослідження. Робота виконана у форматі крос-секційного дослідження

Результати тестування сироваток крові різних груп осіб на наявність антитіл до вірусу гепатиту С

Групи пацієнтів / обстежених	n	Результати тестування на анти-HCV					
		Первинно позитивні		Повторно позитивні		Хибно позитивні	
		Абс.	$P \pm m_p$ (%)	Абс.	$P \pm m_p$ (%)	Абс.	$P \pm m_p$ (%)
Диспансерна група	1930	143	7,4±0,6	120	6,2±0,5	23	1,2±0,2
Пацієнти після плазмаферезу	22	0	0	0	0	0	0
Пацієнти на гемодіалізі	20	7	35,0±10,7	7	35,0±10,7	0	0
Пацієнти дерматологічного відділення	43	5	11,6±4,9	4	9,3±4,4	1	2,3±2,3
Пацієнти з аутоімунною патологією	20	1	5,0±4,9	1	5,0±4,9	0	0
Вагітні	36	6	16,7±6,2	4	11,1±5,2	2	5,6±3,8
Всього	2071	162	7,8±0,6	136	6,6±0,5	26	1,3±0,2

(«пошаровий» пошуковий скринінг). Матеріалом для дослідження були сироватки крові від різних контингентів осіб (n=2071): з хронічною соматичною патологією, які спостерігалися в амбулаторно-поліклінічному відділенні (n=1930), вагітних (n=36), пацієнтів після плазмаферезу (n=22), пацієнтів які знаходились на програмному гемодіалізі (n=20), хворих дерматологічного відділення (n=43), пацієнтів з аутоімунними захворюваннями (n=20). За показник порівняння вважали частоту виявлення анти-HCV у первинних донорів крові (контрольна група, n=316), отримані нами у попередньому дослідженні – (1,9±0,8) % [3].

У зразках сироваток методом ІФА визначали анти-HCV (сумарні) паралельно на двох тест-системах різних виробників з обов'язковим підтвердженням первинних реактивних результатів тестування у конфірматорних тестах (виявлення антитіл до окремих білків збудника – core, NS3, NS4, NS5). Для первинного та підтверджуючого серологічного дослідження зразків сироваток крові застосовували комерційні діагностикуми, зареєстровані та дозволені до використання в Україні. ІФА проводили відповідно до інструкцій виробників тест-систем на метрологічно повіреному напівавтоматичному імуноферментному аналізаторі HUMAREADER.

Показник специфічності дослідження (%) визначали за співвідношенням дійсно негативних результатів тестування до суми дійсно негативних та хибно позитивних результатів [23].

При статистичному аналізі результатів вираховували відносний відсотковий показник та його середню похибку ($P \pm m_p$); достовірність різниці оцінювали за t-критерієм Ст'юдента.

Результати досліджень та їх обговорення. За результатами первинного ІФА у 162 зразках сироваток крові були знайдені анти-HCV до сумарних білків збудника, тобто частота їх виявлення склала (7,8±0,6) %. Для підтвердження позитивності отриманих результатів первинно реактивні зразки досліджували вдруге з використанням діагностиків, спроможних визначати анти-HCV до окремих білків збудника (core, NS3, NS4, NS5). Критерієм підтвердження наявності анти-HCV була позитивна реакція в ІФА принаймні з 2-ма специфічними білками HCV. Після проведення підтверджувальних досліджень

дійсно позитивними виявились 136 зразків сироваток, в той час як 26 з них були кваліфіковані як хибно позитивні (табл. 1).

Після проведення підтверджувальних досліджень дійсний рівень інфікованості дорівнював (6,6±0,5) %, що в був 1,2 разу нижче за показник, отриманий за результатами первинного ІФА, але у 3,5 разу перевищував аналогічний у контрольній групі (t=5,0; p<0,01). Таким чином, первинно позитивні результати дослідження підтвердилися у (84,0±2,9) % випадків і, відповідно, (16,0±2,9) % виявились ХПР. Отримані дані співпадають з матеріалами [10,12], згідно з якими серед імунокомпетентних осіб при рівні поширення HCV-інфекції до 10% (більшість «здорового» населення) пропорція ХПР первинного серологічного скринінгу в середньому може складати 35 %, коливаючись в межах від 15 до 60 %.

В нашому дослідженні результати ІФА після скринінгового та підтверджувального тестів різнились в залежності від групи обстежуваних, що також збігається з даними літератури. Як за результатами первинного, так і підтверджувального досліджень анти-HCV достовірно частіше знаходили при обстеженні пацієнтів на програмному гемодіалізі – (35,0±10,7) % (t=2,7; p<0,05), а серед осіб з аутоімунною патологією серологічні ознаки HCV-інфекції виявлялися рідше, ніж в усіх інших групах – (5,0±4,9) %. Саме при обстеженні вказаних пацієнтів не було зареєстровано жодного ХПР і був отриманий найвищий показник специфічності дослідження (100 %). В середньому, показник специфічності склав (98,7±0,3) %, що нижче, за діагностичну специфічність тест-систем ІФА 3-ї генерації, оцінену на стандартних панелях сироваток (>99 %), проте відповідає критеріям вказаного показника, розрахованого за результатами широкого скринінгу осіб з різним рівнем поширення інфекції [18,23,24]. Найменшою специфічністю дослідження була при обстеженні вагітних (94,1±3,9)%; при обстеженні донорів крові, диспансерної групи та пацієнтів дерматологічного відділення – у межах стандартної похибки середнього показника для всієї групи пацієнтів (рис.).

Найчастіше з-поміж осіб усіх обстежених груп ХПР зустрічались у вагітних – (5,6±3,8) %. Треба

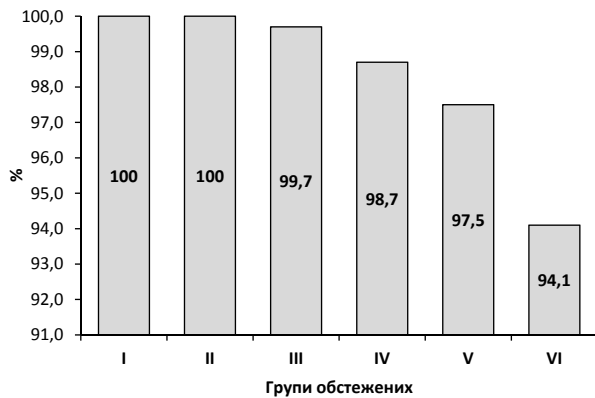


Рис. Специфічність виявлення анти-HCV при обстеженні різних груп осіб: I – пацієнти на гемодіалізі; II – хворі з аутоімунною патологією; III – донори крові; IV – диспансерна група; V – пацієнти дерматологічного відділення; VI – вагітні.

зазначити, що в літературі зустрічаються данні щодо зв'язку пропорції ХПР при визначенні серологічних маркерів HCV з процесом гестації та відомості про те, що первинно позитивні результати виявлення анти-HCV у вагітних доволі часто не підтверджуються після пологів. Наявність зв'язку між можливістю отримання ХПР при виявленні анти-HCV та вагітністю пояснюють, зокрема, змінами мікроелементного складу крові, концентрації цитокінів та гормонів, а також формуванням так званих специфічних «білків вагітності» [4], і зразки сироваток крові вагітних у практичних лабораторіях традиційно вважають «складними», оскільки при їх дослідженні зростає ймовірність отримання хибних результатів ІФА. При обстеженні цієї групи жінок ми отримали не тільки найнижчий показник специфічності дослідження (94,1%), але й найменший відсоток підтвердження первинно позитивних результатів (66,7%). Звертає на себе увагу також той факт, що рівень інфікованості вагітних HCV виявився значно вищим за контрольний – у 5,8 разу. Разом з цим, вагітних зазвичай поряд із донорами вважають представниками здорового населення, і частоту виявлення серед них серологічних маркерів розглядають як фонові рівні поширення інфекції.

На думку багатьох фахівців, інфікування HCV вважається головним інфекційним ускладненням для пацієнтів, які знаходяться на гемодіалізі, і у 5-82% таких осіб можна знайти анти-HCV [17,20]. До кінця не з'ясовані фактори, що обумовлюють настільки високу інфікованість діалітичних хворих, але показано, що вони пов'язані не тільки з трансфузіями та їх кількістю, тривалістю і типом діалізу, але й з реалізацією прихованого парентерального шляху інфікування HCV при використанні апаратів, медичного інструментарію тощо. Отже, пацієнти на гемодіалізі належать до визнаної групи ризику щодо інфікування HCV і потребують системного нагляду для своєчасного розпізнавання інфекційного процесу на його ранніх етапах. За нашими даними, при обстеженні пацієнтів, котрі отримували лікування гемодіалізом,

частота виявлення анти-HCV дорівнювала 35,0%, що збігається з літературними даними. При цьому відсоток підтвердження первинно позитивних результатів та показник специфічності дослідження склали по 100%, спростовуючи факт, що серед таких пацієнтів не виключена можливість отримання ХПР. Аналіз спектру антитіл до окремих білків збудника інфекції показав, що сироватки всіх 7 осіб позитивно реагували з двома або більше білками HCV (табл. 2). В усіх обстежених визначалися анти-HCV до білків core та NS3 (100%), у 6 пацієнтів – до NS4 (85,7%), у 3-х – до NS5 (42,9%). В цілому, спектр антитіл частіше був представлений наявністю анти-HCV до декількох білків вірусу водночас: до всіх білків (core, NS3, NS4, NS5) – у 3-х осіб (42,9%), до core, NS3 та NS4 – також у 3-х осіб (42,9%), до білків core та NS3 – в 1 особи (14,3%). Виявлення антитіл до різних білків HCV або окремих їх епітопів може мати значення для розмежування фаз перебігу хвороби, визначення активності інфекційного процесу, для оцінки ефективності лікування, яке проводиться. Відповідно до існуючих критеріїв оцінки спектру антитіл, можна констатувати, що принаймні у 6 з 7 пацієнтів на програмному гемодіалізі (85,7%), в зразках сироваток крові яких були виявлені специфічні анти-HCV, на момент обстеження розвинувся хронічний ГС. Крім того, доведено, що наявність антитіл до білків HCV не структурного регіону (NS3, NS4, NS5) корелює з присутністю вірусної РНК, що дозволяє розглядати факт виявлення цих антитіл як побічну ознаку реплікації HCV [6].

Таблиця 2

Результати виявлення спектру антитіл до різних антигенів HCV в позитивних зразках сироваток пацієнтів на програмному гемодіалізі (n = 7)

Сироватки	Результати дослідження сироваток крові на наявність анти-HCV до окремих білків			
	core	NS3	NS4	NS5
1	+	+	-	-
2	+	+	+	-
3	+	+	+	+
4	+	+	+	+
5	+	+	+	-
6	+	+	+	-
7	+	+	+	+

Звертають на себе увагу результати обстеження 43 пацієнтів дерматологічного відділення, госпіталізованих з діагнозами склеродермія, псоріаз, демодекс, екзема та дерматит. Після проведення первинного серологічного обстеження анти-HCV було знайдено у 5 з них – (11,6±4,9)% (табл. 1), причому всі – у пацієнтів з діагнозом псоріаз. У цьому плані треба зазначити, що псоріаз – це поширений хронічний дерматоз, котрий відносять до аутоімунних захворювань, популяційна частота якого в Європейських країнах коливається від 0,6 до 6,5%, в США

– біля 3,15%, а в середньому складає 1-4% [13]. Останнім часом велика увага приділяється вивченню імунних факторів в етіопатогенезі псоріазу, при цьому особливу роль відводять активованим імункомпетентним клітинам, що виділяють цілий каскад диференційованих і прозапальних цитокінів, які, в свою чергу, визначають характер патологічних змін у шкірі. Показано, що надлишковий викид цитокінів в процесі розвитку запальної реакції при загостренні псоріазу сприяє зміні співвідношення фракцій ліпопротеїдів крові [5,8], що, можливо, може сприяти отриманню порівняно високого відсотку неспецифічних результатів первинного дослідження ІФА при діагностиці ГС у цієї категорії хворих. За даними нашого дослідження, з 5 первинно позитивних результатів тестування 1 виявився хибно позитивним (відсоток підтвердження – 80%, специфічність дослідження – 97,7%). Аналіз антитіл до окремих білків HCV показав, що в 3-х хворих з серологічними ознаками HCV-інфекції були наявними анти-HCV в усьому спектрі – анти-HCV до білків core, NS3, NS4, NS5, тобто, можна припустити наявність в них сформованого хронічного ГС. Сироватка крові від одного пацієнта реагувала лише з білками core та NS5. Слід зазначити, що антитіла до білку NS5 може бути одним з серологічних маркерів важкості інфекційного процесу, а відсутність антитіл до інших неструктурних білків – відображати імунodefіцитний за будь-яких чинників стан обстежуваного пацієнта.

В цілому, за результатами комплексу первинного та підтверджуючого обстеження хворих на псоріаз встановлено, що частота HCV-інфекції серед них склала 9,3%, що майже у 5 раз частіше, ніж у первинних донорів крові ($t=3,4$; $p<0,05$) та підтверджується даними літератури [9,22]. Такі достатньо високі показники серед осіб, які на момент обстеження не були обізнаними щодо свого інфекційного статусу, викликають безперечний інтерес не тільки з позиції прихованих джерел збудника інфекції, але й з урахуванням того факту, що псоріаз та деякі інші шкірні хвороби сьогодні входять до переліку можливих позапечінкових проявів HCV-інфекції, що необхідно враховувати при призначенні терапії основно-го захворювання. Є дані, відповідно до яких псоріаз у хворих на хронічний ГС перебігає більш важко, має виразніші шкірні прояви. Крім того, специфічна противірусна терапія ГС може провокувати загострення клінічного перебігу псоріазу, і вважають за необхідне пацієнтів з цим діагнозом обов'язково обстежувати на маркери інфікування HCV [9,16].

Окрему групу склали хворі, які отримували лікування плазмаферезом. Цей метод застосовується при лікуванні і профілактиці більш ніж 200 захворювань. Ефект плазмаферезу пов'язаний зі швидким видаленням аутоантитіл і циркулюючих імунних комплексів, елімінацією медіаторів запалення і поліпшення мікроциркуляції, що сприяє відновленню функції ретикулоендотеліальної системи. Зокрема, процедуру плазмаферезу активно застосовують як засіб еферентної терапії в комплексному лікуванні

хворих на хронічний ГС. В літературі є дані щодо успішного застосування подвійного фільтраційного плазмаферезу у комбінації з інтерфероном та рибавирином (плазмаферез призначали до початку медикаментозної терапії для зниження вірусного навантаження HCV у сироватці крові, після чого розпочинали курс основної противірусної терапії). Вважають, що комбінація медикаментозної терапії з сеансами плазмаферезу дозволяє підвищити ефективність та результативність лікування на 70-80% [15]. Серед обстежених нами 20 хворих не було жодного, кому плазмаферез призначали з приводу лікування хронічного ГС, також не було пацієнтів з вірусними гепатитами в анамнезі. А оскільки цю процедуру здійснюють за допомогою обладнання, що мінімізує можливість інфікування вірусами парентеральних гепатитів та ВІЛ, цілком логічно, що в результаті тестування ми не виявили позитивних на анти-HCV зразків сироваток крові.

До наступної групи увійшли 20 пацієнтів з аутоімунними захворюваннями, і вони привернули нашу увагу в зв'язку з тим, що в основі цих захворювань лежить імунна реакція на антигени власних тканин і органів. Звісно, в нормі в організмі людини в невеликій кількості знаходяться природні аутоантитіла (зазвичай класу IgM), котрі при цьому не викликають патологічних процесів, а стимулюють регенерацію тканин. Для імунної аутоагресії необхідно не тільки збільшення їх кількості, але якісні зміни – посилення антигенної специфічності, підвищення авідності і т. ін. У разі ГС аутоантитіла, з одного боку, можуть відігравати важливу роль у розвитку асоційованих з вірусом аутоімунних і лімфопроліферативних захворювань, а з іншого, – впливати на зниження специфічності діагностики HCV-інфекції та, відповідно, сприяти виникненню хибних результатів виявлення анти-HCV методом ІФА [11, 21]. Всі обстежені пацієнти спостерігались в амбулаторно-поліклінічному відділенні з приводу аутоімунних захворювань щитоподібної залози, і у одного з них був позитивний результат виявлення анти-HCV, підтверджений при визначенні антитіл до окремих білків збудника – core та NS3. За даними літератури, у гострій фазі ГС першими у сироватці крові визначаються антитіла до серцевинного білка core, потім послідовно – до NS3, NS4 та NS5 [6]. Отже, отриманий результат може свідчити про початок захворювання на ГС у обстежуваної особи. При цьому необхідно враховувати дані літератури, відповідно до яких ураження щитоподібної залози частіше зустрічається у хворих на хронічний ГС, ніж в загальній популяції, незважаючи на те, що прямий зв'язок між HCV-інфекцією та захворюваннями щитоподібної залози остаточно не встановлений [1,7]. Таким чином, як і у випадку хворих з псоріазом, доцільний індивідуальний підхід до терапії як основного, так і супутнього захворювання або позапечінкового ураження хронічного ГС.

Необхідно окремо зупинитися на результатах обстеження пацієнтів, які знаходились під диспансерним спостереженням в амбулаторно-поліклінічному

відділенні з приводу хронічної соматичної патології і в яких були виявлені анти-НСV. В цілому інфікованість цієї групи склала 6,2% – у 3,3 разу вище, ніж в контрольній ($t=4,8$; $p<0,01$). Відсоток підтвердження первинно позитивних результатів склав 83,9%, а частота ХПР – 1,2%. Аналіз амбулаторних карток рандомізовано відібраних пацієнтів ($n=63$) дозволив встановити, що всі вони протягом періоду спостереження (до 2-х років) у рамках диспансеризації від 2 до 5 раз приходили на обстеження, у тому числі з проведенням біохімічного аналізу крові. У (27,9±5,6)% осіб принаймні під час одного з обстежень були збільшені показники вмісту загально-го білірубину, у (52,3±5,4)% – підвищена активність аланінамінотрансферази (АлАТ), у (48,8±5,4)% – аспартатамінотрансферази (АсАТ). У 11 пацієнтів з відхиленнями в активності АлАТ і АсАТ та 19 осіб без відхилень у «печінкових» ферментах величина співвідношення АсАТ/АлАТ (індекс де Рітца) перевищувала 1,0, що свідчить про загрозу формування цирозу печінки [25]. Найхарактернішим сполученням антитіл до окремих білків вірусу у цих хворих була наявність анти-НСV до core, NS3, NS4 та NS5 водночас (59,4%), тобто, «типовий» серологічний профіль хронічної НСV-інфекції (табл. 3). І лише у 4 пацієнтів з серологічними ознаками НСV-інфекції в амбулаторних картках поряд із основною хронічною патологією зазначався хронічний ГС, для решти обстежених діагноз був встановлений вперше.

Таблиця 3

Результати виявлення спектру антитіл до різних антигенів НСV в позитивних зразках сироваток пацієнтів амбулаторно-поліклінічного відділення (n = 63)

Варіанти спектру антитіл	Результати дослідження сироваток крові на наявність анти-НСV				Кількість зразків сироваток з даним спектром антитіл	
	core	NS3	NS4	NS5	Абс.	%
1	+	+	+	+	41	59,4
2	+	+	+	-	19	27,5
3	+	-	+	+	-	-
4	+	+	-	-	3	4,4
5	+	-	+	-	-	-

Багато даних літератури присвячені визначенню та поясненню можливості отримання хибних результатів тестування на серологічні маркери ГС. В багатьох дискусіях з цього приводу основну увагу приділяють пошуку алгоритму первинного тестування і підтверджувальних досліджень, який був би надійним, точним, легким у застосуванні, економічно обґрунтованим. Як було зазначено вище, в Україні не регламентована верифікація первинно реактивних результатів досліджень ІФА на наявність анти-НСV. За «класикою», результати первинного ІФА необхідно підтверджувати за допомогою більш специфічного тесту – імуноблоту, але в нашій країні на сьогодні

такі тест-системи не зареєстровані, не використовуються. Один з підходів до верифікації полягає у застосуванні методу нейтралізації, але він також не знайшов широкого впровадження. В деяких випадках для підтвердження наявності анти-НСV використовують альтернативні тест-системи ІФА для повторного дослідження реактивних після первинного тестування сироваток і за збігом показників роблять висновок про дійсний стан щодо анти-НСV. Виходячи з викладеного, ми проаналізували частоту збігу та розходжень в результатах первинного скринінгу на наявність анти-НСV за допомогою 2-х різних тест-систем ІФА на матеріалі 68 первинно позитивних сироваток від пацієнтів амбулаторно-поліклінічного відділення. Встановлено, що при дослідженні 26 зразків (38,2%) були отримані дискордантні і, як наслідок, – невизначені результати первинного скринінгу, котрі потребували подальшого підтвердження. В умовах відсутності рекомбінантного імунного блоту в Україні, вважаємо, що на сьогодні найбільш прийнятним підходом до верифікації результатів первинного обстеження методом ІФА на наявність анти-НСV в осіб за різних патологічних станів є виявлення антитіл до окремих білків збудника інфекції методом ІФА.

Висновки.

1. Встановлено, що 6,6% обстежених осіб за різних фізіологічних (вагітні) та патологічних станів неінфекційної природи мали серологічні свідчення наявної або минулої НСV-інфекції, що у 3,5 разу частіше, ніж серед представників здорового населення (первинні донори крові). Найчастіше анти-НСV визначались у пацієнтів на гемодіалізі (35,0%), вагітних (11,1%) та хворих на псоріаз (9,3%).

2. Після первинного тестування найбільша пропорція хибно позитивних результатів ІФА реєструвалась при обстеженні вагітних (5,6%). Специфічність первинного скринінгу при виявленні анти-НСV в цілому відповідала існуючим критеріям діагностичних досліджень (98,7%), але була недостатньо високою при обстеженні вагітних (94,1%).

3. В умовах відсутності в Україні «класичних» діагностикумів для верифікації первинних результатів виявлення анти-НСV (імуноблот) доцільно віддавати перевагу тест-системам ІФА з окремо сорбованими білками збудника, оскільки використання альтернативних тестів збільшує кількість невизначених результатів.

4. Необхідне впровадження цілеспрямованого скринінгу на маркери інфікування НСV осіб з хронічною соматичною патологією.

Перспективи подальших досліджень. Необхідна подальша робота щодо визначення ефективності та специфічності досліджень на маркери НСV-інфекції в осіб за різних патологічних станів та оцінки внеску різних факторів (інфекційної, аутоімунної природи, феномену антигенної мімікрії тощо) у виникнення хибних результатів серологічної та молекулярно-біологічної діагностики гепатиту С у повсякденній лабораторній практиці.

Література

1. Байкова Т. А. Внепеченочные проявления хронических вирусных гепатитов В и С / Т. А. Байкова, Т. Н. Лопаткина // Клиническая гематология. – 2012. – № 1. – С. 31-36.
2. Ворожбит О. Б. Проблема позапечінкових уражень при хронічному гепатиті С / О. Б. Ворожбит // Практична медицина. – 2003. – № 3. – С. 97-101.
3. Ефективність обстеження на серологічні маркери інфікування HCV здорових осіб та хворих за різних патологічних станів / Т. А. Сергеева, Л. К. Беньковська, М. Ю. Джоган, В. Р. Шагінян // Лабораторна діагностика. – 2012. – № 1(59). – С. 3-8.
4. Никулина Д. М. Минорный белок сыворотки крови – связанный с беременностью альфа-2-гликопротеин: теоретические и практические аспекты: автореф. дис. д-ра мед. наук / Д. М. Никулина. – М., 2008. – 38 с.
5. Особенности нарушений в системе цитокинов и липидного обмена у больных псориазом / М. В. Ахлупкина, А. А. Сви-стунув, Л. А. Бакулев [и др.] // Саратовский научно-медицинский журнал. – 2011. – Том 7, № 2. – С. 435-437.
6. Спектр антител к различным антигенам HCV при разных вариантах течения хронической HCV-инфекции / И. В. Круглов, О. О. Знойко, О. Л. Огиенко [и др.] // Вопр. вирусологии. – 2002. – № 2. – С. 11-16.
7. Структурно-функциональные особенности щитовидной железы у пациентов с хроническими гепатитами В и С / Е. В. Га-ляня, Е. Б. Кравец, В. Н. Латыпова, Д. Дамдиндорж // Бюллетень сибирской медицины. – 2009. – № 2. – С. 96-100.
8. Фалько Е. В. Нарушение липидного обмена при псориазической болезни / Е. В. Фалько, Б. С. Хышиктеев // Дальнево-сточный медицинский журнал. – 2009. – № 2. – С. 118-122.
9. A study about hepatitis C virus infection in patients with psoriasis in a Brazilian reference center / D. L. Andrade, de F. Oliveira Mde, de T. F. Souza [et al.] // Acta Gastroenterol Latinoam. – 2012. – Vol. 42, № 4. – P. 285-290.
10. Ansari M. H. K. Evaluations of diagnostic value of ELISA method (EIA) & PCR in diagnosis of hepatitis C virus in hemodialysis patients / M. H. K. Ansari, M. D. Omrani // Hepatitis Monthly. – 2006. – Vol. 6, № 1. – P. 19-23.
11. Carithers R. L., Jr. Diagnostic testing for hepatitis C / R. L. Carithers, Jr., A. Marquardt, D. R. Gretch // *Semin. Liver Disease*. – 2000. – Vol. 20, № 2. – P. 159-171.
12. Centers for Disease Control and Prevention. Guidelines for laboratory testing and result reporting of antibody to hepatitis C virus // *MMWR*. – 2003. – Vol. 52 (RR03). – P. 1-16.
13. Chandran V. Geoepidemiology and environmental factors of psoriasis and psoriatic arthritis / V. Chandran, S. P. Raychaudhuri // *J. Autoimmunity*. – 2010. – Vol. 34, № 3. – P. 314-321.
14. Chen S. L. The natural history of hepatitis C virus (HCV) infection / S. L. Chen, T. R. Morgan // *Int. J. Med. Sci.* – 2006. – 3. – P. 47-52.
15. Double filtration plasmapheresis and interferon combination therapy for chronic hepatitis C patients with genotype 1 and high viral load / K. Fujiwara, S. Kaneko, S. Kakumu [et al.] // *Hepatol. Res.* – 2007. – Vol. 37, № 9. – P. 701-710.
16. Exacerbation of psoriasis due to peginterferon alpha-2b plus ribavirin treatment of chronic active hepatitis C / E. D. Kartal, H. Colak, I. Ozgunes, G. Usluer // *Chemotherapy*. – 2005. – Vol. 51, № 2-3. – P. 167-169.
17. Kinetics of hepatitis C viral RNA and HCV-antigen during dialysis sessions: Evidence for differential viral load reduction on dialysis / T. Kaiser, H. C. Damerow, S. Tenckhoff [et al.] // *J. Med. Virol.* – 2008. – Vol. 80, № 7. – P. 1195-1201.
18. Laboratory Diagnostics for Hepatitis C Virus Infection / S. Kamili, J. Drobeniuc, A. C. Araujo, T. M. Hayden // *Clin. Infect. Dis.* – 2012. – Vol. 55, Suppl. S1. – P. S43-S48.
19. Micallef J. M. Spontaneous viral clearance following Acute hepatitis C infection: A systematic review of longitudinal studies / J. M. Micallef, J. M. Kaldor, G. J. Dore // *J. Viral Hepat.* – 2006. – Vol. 13, № 1. – P. 34-41.
20. Patient-care practices associated with an increased prevalence of hepatitis C virus infection among chronic hemodialysis patients / G. Shimokura, F. Chai, D. J. Weber [et al.] // *Infect. Control Hosp. Epidemiol.* – 2011. – Vol. 32, № 5. – P. 415-424.
21. Pawlotsky J. M. Use and interpretation of virological tests for hepatitis C / J. M. Pawlotsky // *Hepatology*. – 2002. – Vol. 36, (Suppl. 1). – P. S65-S73.
22. Psoriasis associated with hepatitis C but not with hepatitis B / A. D. Cohen, D. Weitzman, S. Birkenfeld, J. Dreiherr // *Dermatol-ogy*. – 2010. – Vol. 220, № 3. – P. 218-222.
23. Ruf M. Statistical aspects of screening tests, including knowledge of and ability to calculate, sensitivity, specificity, positive and negative predictive values, and the use of ROC curves (2008) [Електронний ресурс] / M. Ruf, O. Morgan. – Режим досту-пу: <http://www.healthknowledge.org.uk/public-health-textbook/disease-causation-diagnostic/2c-diagnosis-screening/statistical-aspects-screening>. – Назва з екрану.
24. Sensitivity and specificity of third-generation hepatitis C virus antibody detection assays: an analysis of the literature / C. Col-lin, D. Lanoir, S. Touzet HEPATITIS Group. [et al.] // *J. Viral Hepat.* – 2001. – Vol. 8, № 2. – P. 87-95.
25. Shet S. G. AST/ALT ratio predicts cirrhosis in patients with hepatitis C virus infection / S. G. Shet, S. L. Flamm, F. D. Gordon // *Am. J. Gastroenterol.* – 1998. – Vol. 93, № 1. – P. 44-48.

УДК 616. 578. 833. 2-022. 1:616-035. 7

ПОШУКОВИЙ СКРИНІНГ НА МАРКЕРИ ІНФІКУВАННЯ HCV ТА ЧАСТОТА ХИБНО ПОЗИТИВНИХ РЕ-ЗУЛЬТАТІВ ТЕСТУВАННЯ

Беньковська Л. К., Сергеева Т. А.

Резюме. Представлені результати серологічного скринінгу та оцінки специфічності виявлення анти-HCV серед здорових осіб та хворих з хронічною патологією. Визначена частота хибно позитивних результатів первинного ІФА в окремих групах обстежених осіб та пропорція розходжень цих результатів при паралель-ному скринінгу за допомогою різних тест-систем. Обґрунтована необхідність цілеспрямованого серологіч-ного скринінгу на маркери HCV осіб за хронічних патологічних станів неінфекційної етіології.

Ключові слова: гепатит С, серологічна діагностика, специфічність, хибно позитивні результати.

УДК 616. 578. 833. 2-022. 1:616-035. 7

ПОИСКОВЫЙ СКРИНИНГ НА МАРКЕРЫ ИНФИЦИРОВАНИЯ HCV И ЧАСТОТА ЛОЖНО ПОЗИТИВНЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ ТЕСТИРОВАНИЯ

Беньковская Л. К., Сергеева Т. А.

Резюме. Представлены результаты серологического скрининга и оценки специфичности выявления анти-HCV среди здоровых лиц и больных с хронической патологией. Определена частота ложно положительных результатов первичного ИФА в отдельных группах обследованных лиц и пропорция расхождений этих результатов при параллельном скрининге с помощью различных тест-систем. Обоснована необходимость целенаправленного серологического скрининга на маркеры HCV лиц с хроническими патологическими состояниями неинфекционной этиологии.

Ключевые слова: гепатит С, серологическая диагностика, специфичность, ложно положительные результаты.

UDC 616. 578. 833. 2-022. 1:616-035. 7

Search Screening on Markers of the Becoming Infected of HCV and the Frequency of in a False Manner Positive Results of Testing

Benkovskaya L. K. Sergeeva T. A.

Summary. The results of serological screening and evaluation of the specificity of anti-HCV detection among healthy individuals and patients with chronic diseases are presented. HCV infection rate was 6.6 % when examining pregnant women and people with chronic non-communicable diseases, which is 3.5 times higher than during the examination of blood donors. The highest frequency of anti-HCV detection was observed in hemodialysis patients (35.0%), pregnant women (11.1%) and psoriasis patients (9.3%). Among persons with autoimmune pathology serological signs of HCV infection were detected less frequently than all other groups.

The frequency of false-positive results of initial ELISA in individual groups of examined persons, and the proportion of these results' differences in a parallel screening with different test systems are determined. The proportion of false positive results of anti-HCV detection after the first ELISA was on average 1.3%. The largest numbers of non-specific initial testing results were obtained when examining pregnant women (5.6%), which are supported by the some literature data on the relationship of the gestation's process with a probability increasing the false-positive ELISA results' percentage. In general, the specificity of the results of the primary screening of patients with chronic non-infectious disorders was 98.7 %, pregnant women – 94.1 %. When used for verification of alternative test systems ELISA in 38.2 % of cases the discordant results were obtained, which required additional confirmatory studies. In the absence of confirmation results of the primary by the immune blot appropriate to give preference to ELISA test systems with separately adsorbed HCV proteins.

Presented data on the detection of antibodies to specific HCV proteins (NS3, NS4, NS5, core) in patients with different chronic pathologies not previously examined for hepatitis C serological markers. It is shown that serologic profile of detected anti-HCV among significant number of outpatients who were unaware of their infection condition testified in favor of the formed chronic hepatitis C. Selective analysis of medical records revealed that the outpatients during follow-up was performed biochemical studies for various reasons, and 27.9 % of them during at least one of the tests had increased values of total bilirubin, 52.3 % had increased activity of ALT, 48.8 % AST. In 11 patients with abnormalities in the ALT and AST activity and 19 persons without biochemical abnormalities De Ritis ratio exceed 1.0. It was substantiated the necessity of targeted serological screening for HCV markers individuals with chronic pathologies non-infectious etiology in order to timely diagnosis and prevention of chronic liver disease. This is especially true for patients with autoimmune diseases, endocrine disorders, some skin diseases, pathology of the hematopoietic system, which may be extrahepatic manifestations of chronic hepatitis C.

Further research is needed to determine the efficacy and specificity of HCV-infection markers detection in patients with different pathologies and evaluation of the various factors' contribution (infectious, autoimmune, antigenic mimicry, etc.) in the occurrence of serological and molecular biological diagnostics' false results. Such studies will help to the development of effective approaches to hepatitis C specific serological diagnostics, depending on the purpose, infection prevalence rate, contingents of surveyed persons.

Key words: hepatitis C, serological diagnostics, specificity, false-positive results.

Рецензент – проф. Дубинська Г. М.

Стаття надійшла 29. 08. 2013 р.