

В.А. Туманский, Ю.А. Шебеко

## Интраоперационная иммунохроматографическая экспресс-диагностика вирусного гепатита С в ткани трепанобиоптатов печени

Запорожский государственный медицинский университет

**Ключевые слова:** экспресс-диагностика, иммунохроматографический анализ, вирусный гепатит С.

Исследованы возможности быстрого интраоперационного иммунохроматографического определения наличия антител к вирусу гепатита С в ткани трепанобиоптатов печени и цельной крови 20 больных хроническим вирусным гепатитом С. Установлена 100% чувствительность иммунохроматографического экспресс-метода в цельной крови и 90% чувствительность в ткани трепанобиоптатов печени, экспресс-метод рекомендован для интраоперационного использования в хирургии и трансплантологии с целью срочного выявления антител к вирусу гепатита С в ткани печени и профилактики заражения инфекционным заболеванием медицинского персонала. В случае получения ложноотрицательного результата в биоптате ткани органа рекомендовано дополнительное выявление вируса гепатита С в крови методами ПЦР или ИФА для диагностики вирусного гепатита С.

## Інтраопераційна імунохроматографічна експрес-діагностика вірусного гепатиту С в тканині трепанобіоптатів печінки

В.О. Туманський, Ю.О. Шебеко

Досліджено можливості швидкого інтраопераційного імунохроматографічного визначення наявності антитіл до вірусу гепатиту С в тканині трепанобіоптатів печінки і цільної крові 20 хворих на хронічний вірусний гепатит С. Встановлено 100% чутливість імунохроматографічного експрес-метода в цільній крові і 90% чутливість в тканині трепанобіоптатів печінки, експрес-метод рекомендовано для інтраопераційного використання в хірургії і трансплантології з метою негайного виявлення антитіл до вірусу гепатиту С в тканині печінки та профілактики зараження інфекційним захворюванням медичного персоналу. У випадках отримання хибнонегативного результату в біоптаті тканини органа рекомендовано додаткове виявлення вірусу гепатиту С в крові методами ПЦР, ІФА для діагностики вірусного гепатиту С.

**Ключові слова:** експрес-діагностика, імунохроматографічний аналіз, вірусний гепатит С.

**Патологія.** – 2010. – Т.7., №2. – С. 107–109

## Intraoperative immunochromatographic express diagnostics of viral hepatitis C in biopsy material of liver

V.A. Tumanskiy, Yu.A. Shebeko

There were investigated abilities of quick intraoperative immunochromatographic analysis of antibodies to virus of hepatitis C in biopsy material of liver and blood in 20 patients with chronic viral hepatitis C. The immunochromatographic express method has shown 100% sensitivity in blood and 90% sensitivity in biopsy material of liver. Express method is recommended for use in intraoperative conditions in surgery and transplantology for immediate detection of viral hepatitis C, monitoring of patient's state and prevention of infection of medical personnel. In cases of false-negative results in biopsy material of tissues and organs it is recommended to use standart methods (PCR, IFA) of diagnostics of hepatitis C virus in blood to diagnose viral hepatitis C.

**Key words:** express-diagnostics, immunochromatographic assay, viral hepatitis C.

**Pathologia.** 2010; 7(2): 107–109

Повсеместно распространенный вирусный гепатит С (ВГС) служит одной из основных причин развития цирроза печени и гепатоцеллюлярной карциномы [6]. По оценкам ВОЗ, в мире вирусным гепатитом С инфицировано более 170 млн людей, что составляет около 3% населения земного шара. В Украине от 3 до 5% населения болеет ВГС, частота которого, как минимум, в 5 раз превышает таковую ВИЧ-инфекции [2]. Постоянно увеличивается количество случаев впервые выявленного ВГС в стадии цирроза печени, когда единственным методом продления жизни больных является трансплантация органа. Вирусный гепатит С диагностируется на основании выявления в крови пациента HCV-РНК, антигенов вируса и/или антител к нему [2,6] стандартными высоко чувствительными методами полимеразной цепной реакции (ПЦР) и иммуноферментного анализа (ИФА) [1,2,6], которые проводятся в лабораторных условиях и требуют определенного времени для получения результата. Сегодня в лабораторной диагностике

популярен и востребован иммунохроматографический анализ (ИХА), основанный на взаимодействии антигенов (или антител), фиксированных на хроматографической мембране, с антителами (или антигенами) в биологических материалах (моча, цельная кровь, сыворотка или плазма крови, слюна, кал и т. д.) [1,3]. ИХА в виде экспресс-тестов широко применяется в различных направлениях медицины с целью выявления, мониторинга и предупреждения передачи ВГС [1,3,4,5].

### Цель работы

Определить возможности быстрого иммунохроматографического определения наличия антител к ВГС в ткани трепанобиоптатов печени и крови больных во время биопсии.

### Материалы и методы исследования

У 20 пациентов 25–57 лет, находящихся на диспансерном учете в гепатоцентре Запорожской областной инфекционной больницы с верифицированным диагнозом «хронический вирусный гепатит С» (на основании выяв-

ления HCV-РНК методом ПЦР и/или маркеров вирусного гепатита С методом ИФА), проведено иммунохроматографическое исследование 20 трепанобиоптатов печени и цельной крови с использованием зарегистрированных в Украине тест-кассет «СІТО-TEST HCV» производства «Acon Biotech Co» (P.R. China).

Накануне забора диагностического материала тест-кассеты «СІТО-TEST HCV» предварительно адаптировали к комнатной температуре и распаковывали непосредственно перед началом иммунохроматографического исследования. Перед выполнением диагностической манипуляции (трепанобиопсии), с целью определения наличия в крови антител к ВГС у больных, проводили забор цельной крови из пальца для экспресс-анализа тест-кассетами «СІТО-TEST HCV» и через 10 минут оценивали результат иммунохроматографического тестирования крови.

Далее врачом-хирургом проводилась чрескожная трепанобиопсия печени иглами Uni-Cut и BioCut 14-16G под контролем аппарата УЗИ Conbizon-320-5 Ultima-Pro-30 с применением секторального и конвексного датчиков с ультразвуковой частотой излучения первого датчика 3-4 МГц и 3,5 МГц – второго датчика. В результате пункции получали 3–5 столбиков ткани печени длиной

10 мм и толщиной 0,8 мм для морфологического исследования. Один столбик ткани печени клали в лунку (S) тест-кассеты «СІТО-TEST HCV», в лунку добавляли 1 каплю буфера (около 40 мкл) и через 10 минут оценивали результат иммунохроматографического тестирования биоптата ткани печени на наличие антител к вирусу гепатита С (6).

Появление двух четких линий красного и/или розового цвета в зоне контроля (С) и в зоне теста (Т) тест-кассеты указывало на то, что тест позитивный и в исследуемом образце ткани печени выявлены антитела к вирусному гепатиту С (рис. 1). Появление одной красной или розовой линии в зоне (С), при отсутствии красной или розовой линии в зоне (Т), свидетельствовало об отрицательном результате, т. е. о том, что антитела к вирусу гепатита С не были обнаружены в исследуемом образце ткани печени. Если определялось полное отсутствие двух красных или розовых линий в зонах контроля (С) и теста (Т), либо наличие только одной красной или розовой линии в зоне теста (Т) – такой результат теста считали недействительным.

Чувствительность интраоперационного экспресс-метода выявления антител к вирусу гепатита С в ткани трепанобиоптатов печени определяли по формуле:

$$\text{Чувствительность} = \frac{\text{истиннопозитивные рез-ты ИХА}}{\text{истиннопозитивные рез-ты ИХА} + \text{ложнонегативные рез-ты ИХА}} \times 100\%$$

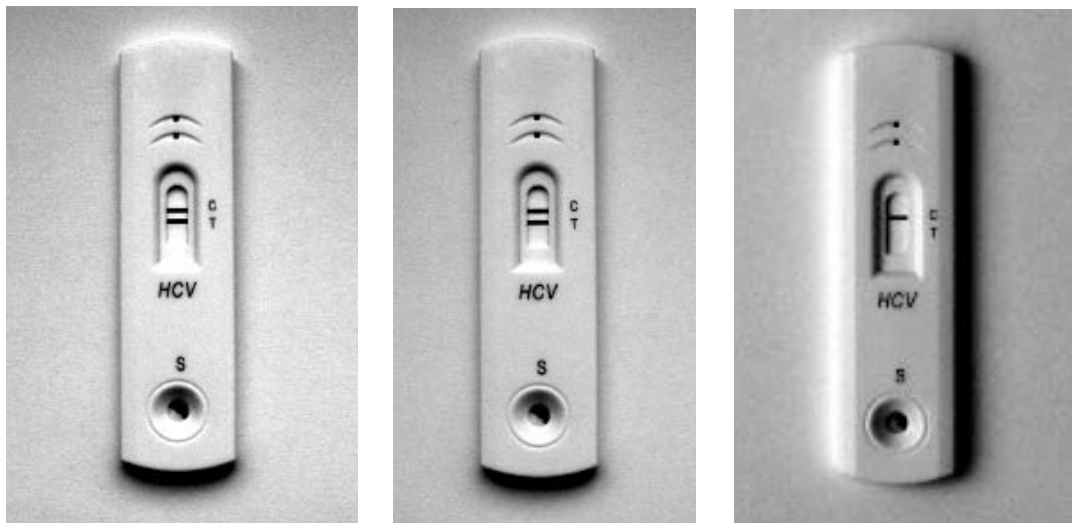


Рис. 1 (а,б,в). Результаты иммунохроматографического выявления антител к вирусу гепатита С: положительный результат в капле крови больного (рис. 1а), положительный результат в столбике ткани трепанобиоптата печени больного (рис. 1б), ложноотрицательный результат в столбике ткани трепанобиоптата печени больного (рис. 1в).

### Результаты и их обсуждение

Согласно проведенным иммунохроматографическим экспресс-исследованиям у всех 20 пациентов с предварительно верифицированным диагнозом хронический вирусный гепатит С, в цельной крови тест-кассетами «СІТО-TEST HCV» выявлены антитела к вирусу гепатита С, т. е. все результаты оказались положительными (рис. 1а). Таким образом подтверждено, что интраоперационный экспресс-метод определения антител к вирусу гепатита С в капле крови больных обладает достоверно

высокой 100% чувствительностью.

У этих же пациентов с предварительно диагностированным хроническим вирусным гепатитом С, с помощью тест-кассет «СІТО-TEST HCV» антитела к вирусу гепатита С в столбике ткани трепанобиоптатов печени выявлены только у 18 больных (рис. 1б). Два результата тестирования ткани печени (из 20) оказались ложноотрицательными: в тест-кассете определялась только одна красная/розовая полоса в зоне контроля (С) (рис. 1в).

Ложноотрицательными эти результаты иммунохрома-

тографического исследования мелких столбиков ткани трепанобиоптатов печени признаны с учетом того, что в капле цельной крови этих же больных таким же иммунохроматографическим методом были выявлены антитела к вирусу гепатита С. Таким образом, в соответствии с полученными нами результатами, интраоперационный экспресс-метод определения антител к вирусу гепатита С в мелких столбиках ткани трепанобиоптатов печени обладает достоверно высокой 90% чувствительностью.

Необходимо отметить, что экспресс-тест «СІТО-TEST HCV» производства «Acon Biotech Co» (P.R.China) предназначен для качественного выявления антител к вирусу гепатита С в цельной крови, сыворотке или плазме, при этом, для получения положительного результата, концентрация антител в исследуемых объемах жидкости должна быть не ниже порога чувствительности тест-кассеты. Существенную роль также играет такой показатель крови, как гематокрит: при его повышении снижается количество плазмы с антителами, мигрирующими вдоль иммунохроматографической полоски с рекомбинантными антигенами экспресс-теста, что может обуславливать получение ложноотрицательного результата.

Нами проводились иммунохроматографические исследования маленьких столбиков трепанобиоптатов ткани печени размерами 0,8x10 мм, которые могли содержать непредсказуемо малый объем крови и, следовательно, низкий уровень антител к вирусу гепатита С, оказавшийся ниже порога чувствительности тест-кассет. Вероятно, именно этим объясняются ложноотрицательные результаты иммунохроматографического исследования столбиков 2-х трепанобиоптатов ткани печени больных с предварительно диагностированным вирусным гепатитом С.

#### Выводы

1. Иммунохроматографический экспресс-метод определения антител к вирусу гепатита С в столбике ткани печени, извлеченном во время трепанобиопсии, проведенный с помощью иммунохроматографических тест-кассет «СІТО-TEST HCV» производства «Acon

Biotech Co» (P.R. China) имеет достоверно высокую 90% чувствительность.

2. Иммунохроматографический экспресс-метод может быть рекомендован к интраоперационному применению в хирургии и трансплантологии для срочного выявления антител к вирусу гепатита С в ткани печени с помощью тест-кассет «СІТО-TEST HCV» производства «Acon Biotech Co» (P.R. China), а также для профилактики заражения ВГС медицинского персонала.

3. Учитывая непредсказуемо малое количество крови в столбике ткани 0,8x10 мм трепанобиоптата печени, сказывающееся на низком уровне антител в исследуемом образце, при получении ложноотрицательного результата в биоптате ткани органа для диагностики вирусного гепатита С рекомендуется дополнительное выявление вируса гепатита С в крови стандартными методами ПЦР или ИФА.

#### Литература

1. Возианова Ж.И. Экспресс-определение некоторых маркеров вирусных гепатитов В и С / Возианова Ж.И., Голубовская О.А., Корчинский Н.Ч. // Лабораторная диагностика. – 2005. – Т. 34. – № 4. – С. 57–59.
2. Голубовская О.А. Интерпретация данных лабораторных и инструментальных исследований при хронических вирусных гепатитах / Голубовская О.А. // Клиническая иммунология. Аллергология. Инфектология. – 2008. – Т. 14. – №3. – С. 28–35
3. Застосування швидких тестів у лабораторній діагностиці інфекційних хвороб (методичні рекомендації – НМАПО ім.П.Л.Шупика). – К.: МОЗ України, 2004. – 31 с.
4. Туманский В.А. Экспресс диагностика инфицирования вирусами ВИЧ, гепатита С и В крови у умерших больных / Туманский В.А., Тимошенко С.Г., Куртев А.В., Кришталъян М.В. // Патологія. – 2007. – Т. 4. – № 3. – С. 83–87.
5. Туманський В.О., Шебеко Ю.О., Живиця С.Г. Патент на корисну модель № 47598 UA МПК (2009) G01N 33/00 Спосіб експрес-діагностики вірусного гепатиту С. Опубл. Опубл. 10.02.2010, Бюл. № 3.
6. Strader Doris B. AASLD Practice Guideline. Diagnosis, Management, and Treatment of Hepatitis C / Doris B. Strader, Teresa Wright, David L. Thomas at al. // Hepatology. – 2004. – Vol. 39. – P. 1147–1171.

#### Сведения об авторах:

Туманский В.А., д. мед. н., профессор, зав. каф. патологической анатомии и судебной медицины с основами права ЗГМУ, директор Института клинической патологии человека.

Шебеко Ю.А., ассистент каф. патологической анатомии и судебной медицины с основами права ЗГМУ.

#### Адрес для переписки:

Туманский Валерий Алексеевич, ЗГМУ, пр. Маяковского, 26, г. Запорожье, 69035, УКРАИНА.

Тел.: (061) 233-50-93.

E-mail: tumanskiy@zsmu.zp.ua