

ЎТКИР ИЧАК КАСАЛЛИКЛАРИДА РОТАВИРУСЛарни ИФА УСУЛИДА ТАШҲИСЛАШ

Ёдгорова Н.Т., Халилов З.С., Шарапов С.М.

ДИАГНОСТИКА РОТОВИРУСОВ МЕТОДОМ ИФА ПРИ ОСТРЫХ КИШЕЧНЫХ ИНФЕКЦИЯХ

Ёдгорова Н.Т., Халилов З.С., Шарапов С.М.

DIAGNOSTICS OF ROTOVIRUSES BY ELISA IF IN ACUTE INTESTINAL INFECTIONS

Yodgorova N.T., Khalilov Z.S., Sharapov S.M.

Тошкент тиббиёт академияси

Цель: оценка эффективности иммуноферментного метода при ротавирусной острой кишечной инфекции у детей. **Материал и методы:** 665 пациентов, поступивших в отделение кишечных заболеваний 4-й детской инфекционной больницы в Ташкенте, и 151 пациент с диареей, получавший лечение в инфекционном отделении Бухарской областной инфекционной больницы. Стул пациентов был исследован методом иммуноферментного анализа. **Результаты:** с помощью метода иммуноферментного анализа ротавирусная инфекция была выявлена у 51 (6,25%) из 816 пациентов. **Выводы:** ИФА-скрининг ротавируса в кале является экономически выгодным методом, который позволяет (2-2,5 ч) проводить фекальное обследование 92 пациентов одновременно.

Ключевые слова: ротавирус, диарея, иммуноферментный анализ.

Objective: Rotavirus improves the biological method of the immunoenzyme, which causes acute intestinal diseases. **Materials and methods:** 665 patients with diarrhea were admitted to the department of intestinal diseases of the 4th Children's Infectious Diseases Hospital in Tashkent and 151 patients with diarrhea in the Bukhara Regional Infectious Diseases Hospital. **Results:** This article is devoted to the method of detection and diagnosis of rotaviruses from the patient's stool using ELISA, which is used for the first time in Uzbekistan. Of 816 cases of acute intestinal infections in Tashkent and the Bukhara region, 51 children (6.25%) were diagnosed with rotavirus infection. The sensitivity of this method was 98.7%, and the specificity was 98.4%. **Conclusion:** IFA-screening of rotavirus in feces is a cost-effective method that allows fecal examination of 92 patients at the same time (2–2.5 hours).

Key words: rotavirus, diarrhea, ELISA

Инцидент ва совук иқлими барча мамлакатларда ўткир ичак инфекцияларининг кўп қисмиди ротавирусли гастроэнтерит 10-70% ташкил қиласди. Ҳар йили ротавирусли гастроэнтеритдан 500 минг бола вафот этади. Уларнинг 80% ривожланадиган мамлакатларда яшайди. Иқтисодий ривожланган мамлакатларда ҳам бу муаммо мавжуд. Ўлим соникам, лекин касалланиш даражаси кўп (5 ёшгача болалар 3.6 млн.). Бутунжаҳон соғлиқни сақлаш ташкилоти маълумотларига кўра 1 йилда 1 млрд.дан кўп ўткир ичак инфекциялари рўйхатга олинади. Улардан 114 млн. ротавирусли гастроэнтерит бўлиб, 20 млн. болаларда касаллик оғир шаклда кечади. Охириги 15 йил ичida ротавирусли инфекция 2 баробар ошди.

ЖССТ берган маълумотга асосан кўпчилик мамлакатларда ротавирусли диареялар билан касалланиш даражаси 100 000 болаларга нисбатан 250 дан 3000 тагача тўғри келмоқда. АҚШда 1 ёшдан 4 ёшгача бўлган болалар ўртасида ҳар йили 1 млн. касаллик аниқланади. Ротавирусли инфекциядан ўлимнинг 82% ини Жанубий Осиё, Хиндистон, Африка ва Лотин Америкаси худудлари ташкил қиласди. Ротавирусларни эрта ташҳислаш болалар ўлимни олдини олишга ёрдам беради. Ўзбекистонда шу вақтгача бемор нажаси Тест системалар орқали текширилиб ташҳис қўйилаётган эди. Мазкур илмий

иш давомида бемор нажасидан ИФА усули ёрдамида ротавирусларнинг антигенини аниқлаш, ҳамда Ўзбекистонда ҳам олиб борилаётган ротовирусларга қарши эмлаш ишларининг қанчалик самадорлигини текширишда фойдаланиш имкони борлиги баҳоланди.

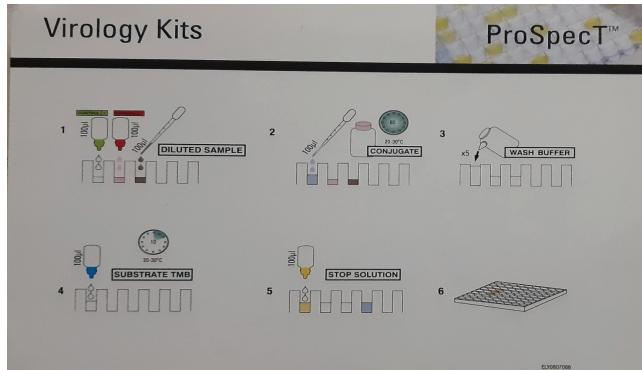
Тадқиқот мақсади

Болаларда ротавирусли ўткир ичак касалликларини иммунофермент усулини самарадорлигини ўрганиш.

Материал ва усуллар

Текширув учун (1-январдан 31-июлгacha 2019 йил) Тошкент шаҳри 4-болалар юқумли касалликлар шифохонасининг ичак касалликлари бўлимига диарея билан мурожаат қилган 665 нафар ва Бухоро вилояти юқумли касалликлар шифохонасининг ичак касалликлари бўлимига диарея билан мурожаат қилган 151 нафар беморлар танлаб олинди. Беморларнинг барчаси қабул вақтида клиник-лаборатор ва бактериологик текширувдан ўтказилди. Беморлардан текширув учун материал (нажас) стерил идишларга олинди, музлатгичда -20°C да ҳар ойнинг охиригача сақланди ва ЎзР Вирусология илмий текшириш институтининг Референс лабораторияси олиб келинди.

Нажасни иммуннофермент таҳлил усули (IFU X7596C, Revised April 2012, Printed in the UK) ёрдамида текширилди (1-расм).



1-расм. Нажасни ИФА усули билан текширишинг кетма-кетлиги.

Нажасини ИФА усулда текшириш: дастлаб нажас суюлтирилди: 0,1 г нажас + 0,9 мл Diluted sample = 10% ли эритма тайёрланди. 1 стрипнинг 1 ва 2 лункаларига Control+ ва Control – дан 2 томчидан қолган лункаларга эса суюлтирилган нажасдан 2 томчидан қуийлди. Устидан 2 томчидан Conjugate қўшилди. Сўнг инкубация қилиш (хона ҳароратида 20-30°C 60±5 дақ.) 5 маротаба юувучи эритмада ювиш 400 млдан (юувучи эритма тайёrlаш учун 1мл Wash buffer + 9мл дистилланган сув). 2 томчидан ҳар бир лункага Substrate TMB қўшилди. Яна инкубация қилинди (хона ҳароратида 20-30°C 10 дақ.) 2 томчидан ҳар бир лункага Stop solution қўшилди. Иммуннофермент таҳлил қўшимча реагентлар анти-

ген ва антитела, нишонланган ферментлар (пероксидаза, ишқорий фосфатаза) қўлланилиши билан фарқланади. Иммун комплекс ҳосил қилингандан сўнг ушбу системага ферментлар билан бойитилган субстрат қўшилади, бунда муҳит сарғиш (пероксидаза иштирокида) ёки сарғиш-яшил (фосфатаза иштирокида) ранга киради. Ротавируснинг мусбат натижасида сарғиш рангга ўтказилганлиги билан тасдиқланди. Ранг ўзгариши спектрофотометрик усулда ҳисоблаб чиқилди (450 nm). 0,200 оптик бирлиқдан юқориси мусбат натижаси ҳисобланди. Бу усулда 2 соат ичида аниқ жавоб олиш мумкин.

Натижага мухокамалар

Ўзбекистонда илк маротаба, болалар ичак инфекцияларида Ротавирусни аниқлашда нажасни текширишда ИФА усули амалга оширилди.

Текширувда Тошкент шаҳри 4-болалар юқумли касалликлар шифохонасининг ичак касалликлари бўлимидан 665 нафар ва Бухоро вилояти юқумли касалликлар шифохонасидан 151 нафар беморларнинг нажаси текширилди. Тошкент шаҳридан 665 нафар (ўртacha ёши: 18,7 ойлик) bemorлардан ўғил болалар 353 нафар (53%) ва қиз болалар 312 нафар (47%) ҳамда Бухоро вилоятидан эса 151 нафар (ўртacha ёши: 14,4 ойлик) bemorлардан ўғил болалар 99 нафар (65%) (ўртacha ёши: 14 ойлик) ва қиз болалар 52 нафар (35%) (ўртacha ёши: 16 ойлик) ташкил этди. Текширувда Тошкент шаҳридаги 665 нафар bemorдан 46 нафарида (6,9%) ротавирус борлиги аниқланган бўлса, Бухоро вилоятидаги 151 нафар bemorлардан 5 нафарида (3,3%) ротавирус борлиги аниқланди (1-жадвал).

Жадвал-1

Тошкент шаҳар ва Бухоро вилоятининг Ротовирус бўйича текширув натижалари (1-январдан 31-июлгача 2019 йил)

Жой номи	Текширув усули	Беморлар сони	Мусбат натижага	Юкламалар даражаси	Абсолют кўрсаткич	%
Тошкент шаҳри	ИФА (нажас)	665	46	X<0,2	619	93,1
				0,21-0,3	19	2,85
				0,31-0,4	13	1,95
				0,41-0,5	6	0,9
				0,51>X	8	1,2
Бухоро вилояти	ИФА (нажас)	151	5	X<0,2	146	96,7
				0,21-0,3		
				0,31-0,4	4	2,65
				0,41-0,5	1	0,65
				0,51>X		

Юқоридаги жадвалдан кўриниб турибдикি, ИФА анализида чиқсан натижаларни, Ротавирус антигенининг юклама даражасига кўра бир неча гурухга бўлишимиз мумкин. Дастлабки гурухга 19 нафар bemor мансуб эканлиги аниқланди. Бу кўрсаткич асосан касалликнинг енгил шакли билан касалланганлигидан далолат беради.

Юқоридаги диаграммадан кўриниб турибдикি ўткир ичак касалликлари билан даволанаётган bemorлarda, ротавирусларнинг аниқланиши ёш бўйича тақсимланганда асосий қисмни 1 ёшгача бўлган болалар, ундан кейинги ўринларда мос равишда 1 ёшдан 2 ёшгача ва 2 ёшдан 3 ёшгача болалар ташкил қилиши аниқланди.

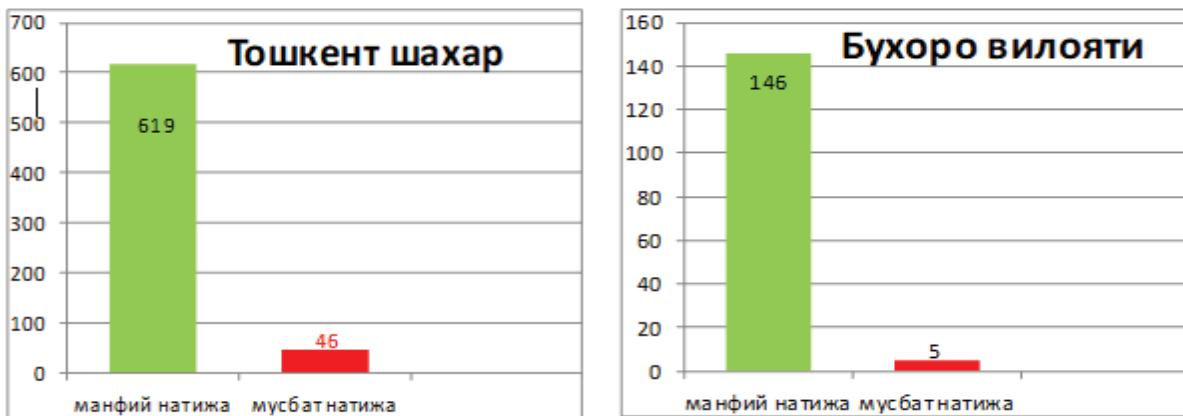


Диаграмма-1. Тошкент шаҳар ва Бухоро вилоятининг Ротовирус инфекцияси бўйича текширув натижалари (1-январдан 31-июлгача 2019 йил).

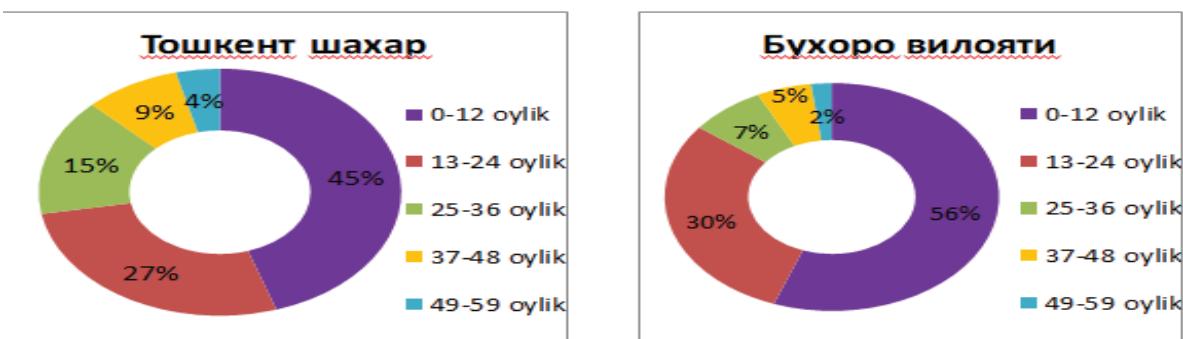


Диаграмма-2. Тошкент шаҳар ва Бухоро вилоятининг Ротовирус бўйича текширув натижалари (ёшлар бўйича тақсимланиши 1-январдан 31-июлгача 2019 йил)

Хулоса

Болаларда ротавирусли ўткир ичак касалликларини иммунофермент усулини самарадорлигини ўрганимизда умумий олинган 816 бемордан 51 нафарида (6.25%) ротавирус инфекцияси аниқланди. Нажасда ротавирусни ИФА усулида текшириш иқтисодий самарадор усул бўлиб, қисқа вақтда (2-2,5 соат) бир вақтнинг ўзида 92 нафар бемор нажасини текшириш имконини берди.

Адабиётлар

- Анохин В.А., Халиуллина С.В., Биккинина О.И., Сушников К.В. Ротовирусная инфекция у детей: современные аспекты диагностики и лечения// практическая медицина - 2009 № 7 С. 41-45.
- Битиева Р.Л. Оценка новых подходов к диагностике и терапии ротавирусной инфекции у детей//Автореферат-2007-Москва
- Денисюк Н.Б. Современные аспекты лабораторной диагностики и профилактики ротавирусной инфекции у детей // Журнал инфектологии. -2015. - Т. 7, № 1. - С. 31-38.
- Скитович Г.С. Разработка иммуноферментных тест-систем для выявления антител к рота- и коронавирусам крупного рогатого скота// Автореферат-2012- Владимир.
- Тест ProSpecT Микропланшетный тест на ротавирусы IFU X7596C, апрель 2012г, Великобритания.

ЎТКИР ИЧАК КАСАЛЛИКЛАРИДА

РОТАВИРУСЛАРНИ

ИФА УСУЛИДА ТАШҲИСЛАШ

Ёдгорова Н.Т., Халилов З.С., Шарапов С.М.

Мақсад: болаларда ротавирусли ўткир ичак касалликларини иммунофермент усулини самарадорлигини ўрганиш. **Материал ва усуллар:** Тошкент шаҳри 4-болалар юқумли касалликлар шифохонасининг ичак касалликлари бўлимига диарея билан мурожаат қилган 665 нафар ва Бухоро вилояти юқумли касалликлар шифохонасининг ичак касалликлари бўлимига диарея билан мурожаат қилган 151 нафар беморлар танлаб олинди. **Натижалар:** бемор нажасидан ротавирусларни ИФА усули орқали аниқлаш ва ташҳислаш усулига бағишлиланган бўлиб, бу усулда ташҳис қўйиш Ўзбекистонда илк бора қўлланилди. Тошкент шаҳри ва Бухоро вилоятидан текширув учун умумий олинган 816 нафар ўткир ичак инфекциялари билан касалланган болаларнинг 51 нафарида (6,25%) ротавирус инфекцияси аниқланди. Бу усулнинг сезгирилиги 98,7% ни, маҳсуслиги эса 98,4% ни ташкил қилди. **Хулосалар:** нажасда ротавирусни ИФА усулида текшириш иқтисодий самарадор усул бўлиб, қисқа вақтда (2-2,5 соат) бир вақтнинг ўзида 92 нафар бемор нажасини текшириш имконини берди.

Калим сўзлар: ротавирус, диарея, ИФА.