

ЎТКИР ИЧАК КАСАЛЛИКЛАРИДА РОТАВИРУСЛАРНИ ИФА УСУЛИДА ТАШХИСЛАШ

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 rotoviruses 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

Иссиқ ва совуқ иқлимли барча мамлакатларда ўткир ичак инфекцияларининг кўп қисмини ротавирусли гастроэнтерит 10-70% ташкил қилади. Ҳар йили ротавирусли гастроэнтеритдан 500 минг бола вафот этади. Уларнинг 80% ривожланаётган мамлакатларда яшайди. Иқтисодий ривожланган мамлакатларда ҳам бу муаммо мавжуд. Ўлим сони кам, 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. Охирги 15 йил ичида 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, Ҳиндистон, Африка ва Лотин Америкаси худудлари ташкил қилади. Ротавирусларни эрта ташхислаш болалар ўлимини олдини олишга ёрдам беради. Ўзбекистонда шу вақтгача бемор нажаси Тест системалар орқали текширилиб ташхис қўйилаётган эди. Мазкур илмий

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

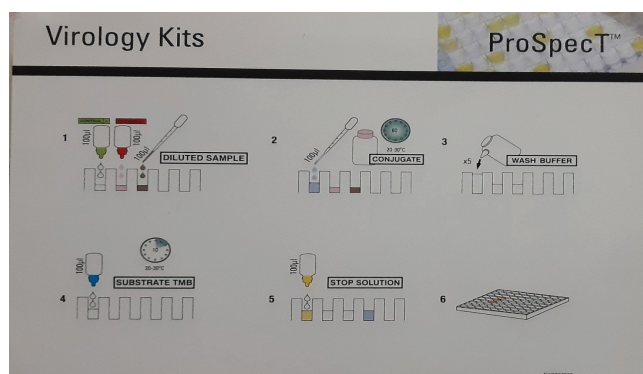
Тадқиқот мақсади

Болаларда ротавирусли ўткир ичак касалликларини иммунофермент усулини самарадорлигини ўрганиш.

Материал ва усуллар

Текширув учун (1-январдан 31-июлгача 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 лабораториясига 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 текширишнинг 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 қуйилди. Устидан 2 томчидан Conjugate қўшилди. Сўнг инкубация қилиш (хона ҳароратида 20-30°C 60±5 дақ.) 5 маротаба ювувчи эритмада ювиш 400 млдан (ювувчи эритма тайёрлаш учун 1мл Wash buffer + 9мл дистилланган сув). 2 томчидан ҳар бир лункага Substrate ТМВ 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 ранга ўтказилганлиги билан тасдиқланди. Ранг ўзгариши спектрофотометрик усулда ҳисоблаб чиқилди (450 nm). 0,200 оптик бирликдан юқориси мусбат натижа ҳисобланди. Бу усулда 2 соат ичида аниқ жавоб олиш мумкин.

Натижа ва муҳокама

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 (ўртача ёши: 18,7 ойлик) беморлардан ўғил болалар 353 нафар (53%) ва қиз болалар 312 нафар (47%) ҳамда Бухоро вилоятидан эса 151 нафар (ўртача ёши: 14,4 ойлик) беморлардан ўғил болалар 99 нафар (65%) (ўртача ёши: 14 ойлик) ва қиз болалар 52 нафар (35%) (ўртача ёши: 16 ойлик) ташкил этди. Текширувда Тошкент шаҳридаги 665 нафар бемордан 46 нафар (6,9%) ротавирус борлиги аниқланган бўлса, Бухоро вилоятидаги 151 нафар беморлардан 5 нафар (3,3%) ротавирус борлиги аниқланди (1-жадвал).

Жадвал-1

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

Жой номи	Текширув усули	Беморлар сони	Мусбат натижа	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 турибдики, ИФА анализидан чиққан натижаларни, Ротавирус антигенининг юклама даражасига кўра бир неча гуруҳга бўлишимиз мумкин. Дастлабки гуруҳга 19 нафар бемор мансуб эканлиги аниқланди. Бу кўрсаткич асосан касалликнинг энгил шакли билан касалланганлигидан далолат беради.

Юқоридаги диаграммадан кўриниб турибдики ўткир ичак касалликлари билан даволанаётган беморларда, ротавирусларнинг аниқланиши ёш бўйича тақсимланганда асосий қисми 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 Ротавирус инфекцияси бўйича текширув натижалари (1-январдан 31-июлгача 2019 йил).

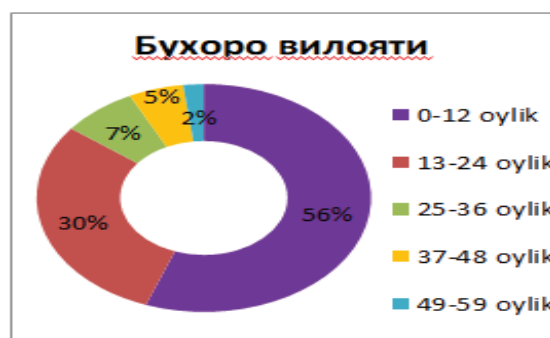
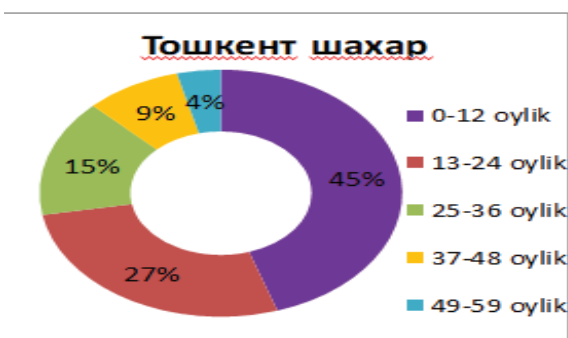


Диаграмма-2. Тошкент шаҳар ва Бухоро вилоятининг Ротавирус бўйича текширув натижалари (ёшлар бўйича тақсимланиши 1-январдан 31-июлгача 2019 йил)

Хулоса

Болаларда ротавирусли ўткир ичак касалликларини иммунофермент усулини самарадорлигини ўрганганимизда умумий олинган 816 бемордан 51 нафаридан (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

1. Анохин В.А., Халиуллина С.В., Биккинина О.И., Сушников К.В. Ротавирусная инфекция у детей: современные аспекты диагностики и лечения// практическая медицина – 2009 № 7 С. 41-45.
2. Битиева Р.Л. Оценка новых подходов к диагностике и терапии ротавирусной инфекции у детей//Автореферат-2007-Москва
3. Денисюк Н.Б. Современные аспекты лабораторной диагностики и профилактики ротавирусной инфекции у детей // Журнал инфектологии. –2015. – Т. 7, № 1. – С. 31-38.
4. Скитович Г.С. Разработка иммуноферментных тест-систем для выявления антител к рота- и коронавирусам крупного рогатого скота// Автореферат-2012- Владимир.
5. Тест ProSpecT Микроплашетный 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 нажасдан ротавирусларни ИФА усули орқали аниқлаш ва ташҳислаш усулига бағишланган 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 нафаридан (6,25%) ротавирус инфекцияси аниқланди. Бу усулнинг сезгирлиги 98,7% ни, махсуслиги 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.

Калит сўзлар: ротавирус, диарея, ИФА.