

Сумський державний педагогічний університет імені А.С.Макаренка

Природничо-географічний факультет

Кафедра біології та методики навчання біології

Гацаєва Олена Іванівна

Сучасні методи дослідження донорів на маркери гемотрансмісивних
інфекцій

Спеціальність: 014 Середня освіта (Біологія та здоров'я людини)

Галузь знань: 01 Освіта/Педагогіка

кваліфікаційна робота

на здобуття освітнього ступеню магістра

Науковий керівник:

_____ С.Е. Генкал

кандидат педагогічних наук,

доцент кафедри біології та методики

навчання біології

«__» _____ 2021 року

Виконавець

_____ О.І.Гацаєва

«__» _____ 2021 року

ЗМІСТ

Вступ.....	3-7
РОЗДІЛ 1. НАЙБІЛЬШ НЕБЕЗПЕЧНІ ІНФЕКЦІЇ, ЩО ПЕРЕДАЮТЬСЯ ГЕМОТРАНСМІСИВНИМ ШЛЯХОМ	
1.1. ВІЛ-Інфекція/ СНІД	8-11
1.1.1 Особливості поширення епідемії ВІЛ/СНІДу в Україні	11-12
1.1.2. Лабораторна діагностика ВІЛ-інфекції	12-16
1.2. Вірусні гепатити	16-18
1.2.1. Гепатит В.....	18-21
1.2.2. Лабораторна діагностика вірусного гепатиту В.....	22-24
1.2.3. Гепатит С	24-27
1.2.4. Лабораторна діагностика вірусного гепатиту С.....	28-29
1.2.5. Епідемічний стан та поширення вірусних гепатитів в Україні	30
1.3. Сифіліс	31-33
1.3.1. Лабораторна діагностика сифілісу.....	33-36
1.4. Поширеність інфекційних захворювань.....	29-30
РОЗДІЛ 2. СУЧАСНІ МЕТОДИ ЛАБОРАТОРНОЇ ДІАГНОСТИКИ ТРАНСФУЗІЙНО-ТРАНСМІСИВНИХ ІНФЕКЦІЙ	
2.1. Імуноферментний метод (ІФА). Принципи методу.....	37-38
2.1.1 Основні компоненти в ТІФА.....	39-40
2.1.2. Переваги та недоліки застосування.....	40
2.2. Метод хемілюмінесценції.....	41-43
2.2.1 Імуноферментний метод з хемілюмінесценцією. Переваги методу та недоліки застосування.....	41-42
2.2.2 Імунохімічні тести з визначенням за допомогою електрохемілюмінесценції	42-44
2.2.3 Переваги методу та недоліки застосування.....	43-44

2.3 Метод полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР).

Принцип методу..... 45-48

2.3.1 Переваги методу та недоліки застосування..... 48-49

РОЗДІЛ 3. Результати дослідження донорської крові Сумського обласного центру служби крові.

3.1 Загальна характеристика клініко-діагностичної лабораторії ТОВ «СОЦСК»..... 50-52

3.2 Характеристика донорів ТОВ «СОЦСК»..... 52-55

3.3 Скринінгові методи дослідження ТОВ «СОЦСК».....55-68

ВИСНОВКИ..... 69-70

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....71-74

ВСТУП

Актуальність теми. Донор це людина яка свідомо рятує життя інших. Донор - людина з високими моральними принципами такими як гуманізм, доброта, чуйність, патріотизм.

Служба крові України важлива складова частини вітчизняної охорони здоров'я яка забезпечує надання трансфузіологічної допомоги в мирний час і під час виникнення надзвичайних ситуацій. Проблеми розвитку служби крові мають загальнодержавний стратегічний характер, тому що відносяться до питань безпеки держави.

За останній час відбулися зміни в розумінні завдань трансфузіології, пов'язані з визнанням ризику при переливанні крові та її компонентів і необхідності їх застосування. В Україні здійснено перехід на застосування компонентів крові при проведенні лікування (цільна кров практично не використовується в клінічній практиці). Потреба в компонентах крові не пропорційна їх вмісту в крові і змінюється разом зі змінами протоколів ведення хворих.

В сучасній хірургії зменшується потреба в еритроцитах, але росте потреба в свіжозамороженій плазмі. В онкогематології і при гострій променевої хворобі терапія використовується великої кількості тромбоцитів. Розвиток трансфузіології пов'язаний з переходом від гемокомпонентної терапії до використання препаратів крові, в тому числі і генно-інженерних.

Найголовніша мета донорства - безпека для донора і реципієнта. Переливання компонентів крові пов'язане з безліччю ризиків. ВІЛ і гепатити з різними генотипами - це той смертельний бонус, який пацієнт, що потребує компонентів крові, може отримати з перелитими йому еритроцитами, тромбоцитами, з плазмою крові.

Питання заготівлі донорської крові, її переробка, інфекційна безпека, контроль якості крові на сьогодні визнано стратегічними в розвитку нашої країни, невідкладними в вирішенні, тому що торкаються кожного громадянина України. У Стратегії розвитку національної системи крові (2022) зазначається, що для забезпечення рівноправного та своєчасного доступу громадян до якісної та безпечної донорської крові, її компонентів і препаратів у достатній кількості, необхідно створити сучасну, високоспеціалізовану, інтегровану національну систему крові на державному рівні – галузь медицини, яка забезпечить організацію донорства, тестування, заготівлю, виробництво компонентів крові та їх застосування в лікувальній практиці. Національна стратегія скринінгу донорської крові та її компонентів на маркери гемотрансмісивних інфекцій базується на Конституції України, Законах України та інших державних нормативно-правових актах та визначає основні підходи до створення і функціонування порядку обстеження донорів.

Ключовим моментом реалізації даної стратегії є забезпечення ефективності гемотрансфузійної допомоги населенню, інфекційної та імунологічної безпеки. [5,6]

Служба крові України представлена мережею закладів (центри служби крові, станції переливання крові) і підрозділів (відділення лікарень, які заготовляють кров), які забезпечують якість засобів для трансфузіологічної терапії.

У системі Служби крові в Україні функціонує 61 станція переливання крові (з них 24 обласних, 1 республіканська і 27 міських), 419 відділень переливання крові, з них 6 підпорядковані Національній академії медичних наук України, 3 – Міністерству оборони України, 4 – Укрзалізниці, 50 лікарень, які заготовляють кров та її компоненти.

Служба крові Сумської області представлена Товариством з обмеженою відповідальністю «Сумський обласний центр служби крові» та відділеннями трансфузіології Сумської обласної клінічної лікарні, Сумської обласної дитячої клінічної лікарні, Сумського обласного клінічного

онкологічного диспансеру, відділеннями трансфузіології центральних районних лікарень Глухівського, Конотопського, Лебединського, Охтирського, Путивльського, Роменського, районів [9,5].

Обов'язковий лабораторний скринінг донорської крові імуносерологічними методами ІФА, ІХЛА та ЕХЛА є важливою ланкою комплексних дій, які підвищують безпеку гемотрансфузій. Проте ризик інфікування зберігається, що обґрунтовано рядом причин, серед яких важливе значення має наявність періоду «серонегативного вікна» та інших особливостей інфекційного процесу.

Мінімізувати ризик передачі збудників вірусних інфекцій дозволяє генампліфікаційне тестування донорської крові.

Мета дослідження полягає у порівнянні ефективності різних сучасних методів скринінгу донорської крові на наявність маркерів гемотрансмісивних інфекцій. Для досягнення мети було поставлено та вирішено такі **завдання**:

1. Проаналізувати наукову літературу щодо гемотрансмісивних інфекцій.
2. Вивчити сучасні лабораторні методики та методи їх застосування в скринінгу донорської крові.
3. Порівняти частоту виявлення серологічних маркерів ВІЛ-інфекції, вірусних гепатитів В та С серед донорів Сумської області методами ІФА, ЕХЛА, та виявлення генетичних маркерів цих інфекцій методом ПЛР в пулах плазми у донорів серонегативних в ІФА та ЕХЛА.
4. Порівняти ефективність застосування різних методів на прикладі КДЛ ТОВ «СОЦСК».

Об'єкт дослідження – зразки донорської крові ТОВ «СОЦСК» обстеженні в період 2016-2020 рр. (якісні показники скринінгу зразків донорської крові на наявність маркерів гемотрансмісивних інфекцій).

Предмет дослідження - сучасні методи дослідження донорської крові на маркери гемотрансмісивних інфекцій.

Матеріали та методи дослідження. Теоретичні методи: збір інформації, теоретичний аналіз наукових джерел, узагальнення, конкретизація, порівняльний підхід.

Емпіричні: підготовка біологічного матеріалу (преаналітичний), обстеження біологічного матеріалу доступними сучасними методами (ІФА, ІХЛА, ЕХЛА, ПЛР).

Статистичні: при обробці зібраних даних використовували програму Excel (MS Office 2019, XP).

Наукова новизна одержаних результатів. Проведений аналіз частоти виявлення донорів, які знаходяться в періоді «серонегативного вікна» ВІЛ-інфекції, гепатиту С та В. Виявлена доцільність застосування методу ПЛР для обстеження донорів. Продемонстровано вплив вдосконалення лабораторних методів на якість роботи лабораторії.

Практичне значення одержаних результатів. За результатами досліджень зроблені статистичні підрахунки. Доведена доцільність використання одночасно двох методів (ЕХЛА, ПЛР) під час скринінгу донорської крові. Зроблені висновки щодо необхідності оптимізації та автоматизації роботи КДЛ та його позитивного впливу на якість лабораторних досліджень.

Апробація результатів та публікації. Результати дослідження представлено на I Всеукраїнській заочній науковій конференції «**Освітні та наукові виміри природничих наук**» (м. Суми, 8 грудня 2020 року), відображено в публікаціях: «Трансфузійно-трансмисивні інфекції у донорів крові та її компонентів Сумської області»; «Застосування методу полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) для скринінгу донорської крові на гемотрансмисивні інфекції».

Структура та обсяг роботи.

Робота складається зі вступу, трьох розділів, висновків та списку використаних джерел. Загальний обсяг дипломної роботи – 74 сторінки, список використаних джерел з 41 найменувань, 16 таблиць та 15 рисунків.

РОЗДІЛ 1

НАЙБІЛЬШ НЕБЕЗПЕЧНІ ІНФЕКЦІЇ, ЩО ПЕРЕДАЮТЬСЯ ГЕМОТРАНСМІСИВНИМ ШЛЯХОМ

Налічується більш 20 інфекцій вірусної, бактеріальної та паразитарної природи, які можуть передаватися гемотрансмівним шляхом. Найбільш небезпечними збудниками інфекцій є віруси гепатиту В,С та імунодефіциту людини. Тестування донорської крові на маркери гемотрансмівних інфекцій регламентовано нормативними документами:

1. НАКАЗ МОЗ України №997 від 22.11.2013 «Про затвердження Методичних рекомендацій «Сучасні підходи до лабораторної діагностики сифілісу».
2. НАКАЗ МОЗ України №134 19.02.2013 «Про затвердження Порядку скринінгу донорської крові та її компонентів на гемотрансмівні інфекції».

1.1. ВІЛ-Інфекція/ СНІД

Наприкінці ХХ століття з'явилася та набула найбільшого поширення ВІЛ-інфекція/СНІД. У США 1985 р. було виявлено смертельну форму пневмоцистної пневмонії та саркоми Капоши у молодих чоловіків гомосексуальної орієнтації. Хвороба супроводжувалась значним імунодефіцитом із специфічними ураженнями Т-лімфоцитів, передусім CD4-хелперів. За цією ознакою хворобу назвали синдромом набутого імунодефіциту (СНІД).

У 1983 р. в лабораторіях Л. Монтаньє у Франції та Р. Галло в США виділили та описали два Т-лімфотропні віруси, які виявились ідентичними і були названі у 1985 році вірусом імунодефіциту людини (ВІЛ), а хвороба стала носити назву ВІЛ-інфекція [10].

ВІЛ відноситься до родини Ретровірусів, роду лентівірусів. На даний час відомі два штами вірусу – ВІЛ-1 та ВІЛ-2. Перший призвів до пандемії

ВІЛ-інфекції/СНІДу, другий поширений переважно в Західній Африці, а також в деяких країнах Азії та Індії.

Вірус сферичної форми, досягає в діаметрі 100-120 нм.

Зовнішня оболонка вірусу (суперкапсид) представлена подвійним прошарком ліпідів клітинного походження і вкрита 72 глікопротеїновими шпичачками, зануреними у неї одним кінцем. Ці глікопротеїнові шпичачки мають “шапочку”, яку формують 3 або 4 молекули gp120/140 та “ніжку”, що складається з 3 або 4 молекул gp36/41. Серцевинний компонент ВІЛ має форму сфери чи трапеції містить у собі генетичний матеріал, внутрішні білки і вірусні ферменти. Генетичний матеріал представлений двома молекулами однонитчастої РНК. Кожна нитка включає в себе 9 генів.[10,35]

Унікальність ВІЛ забезпечує надзвичайно рідкий в природі фермент зворотна транскриптаза. Цей фермент здатний здійснювати зворотній хід зчитування генетичної інформації з утворенням провірусної ДНК на матриці РНК (процес зворотної транскрипції). ВІЛ-1 та ВІЛ-2 має особливу тропність до молекул CD4, що є на поверхні Т-лімфоцитів, передусім CD4-хелперів. Вірус адсорбується на поверхні клітини, у цитоплазму проникає серцевина вірусу і активована зворотна транскриптаза каталізує синтез ДНК на матриці вірусної РНК. Новоутворена ДНК інтегрує (вбудовується) в геном клітини за допомогою фермента ВІЛ інтегрази і в такій інтегрованій формі являє собою провірусну ДНК або ДНК-провірус що стає основою для реплікації ВІЛ. Далі відбувається транскрипція РНК вірусу на провірусній ДНК, транспортування РНК вірусу в рибосомальний апарат, синтез вірусних білків, формування та складання віріонів за участю ферменту ВІЛ протеази та вихід десятків тисяч вірусів з клітини шляхом брунькування. Повний цикл репродукції вірусу відбувається протягом 1-2 діб.

ВІЛ властива висока мінливість, що призводить до формування мутантних варіантів і зумовлює появу штамів з новими властивостями.

Джерелом інфекції є ВІЛ-інфікована людина на стадії безсимптомного носійства. Збудник знаходиться в крові, спермі, виділеннях статевих органів,

спинномозковій рідині, грудному молоці. Вважається, що в інших рідинах організму – слині, сечі, сльозах, фекаліях, кількість вірусу мала і недостатня для інфікування.

Визначені 3 основні шляхи інфікування ВІЛ:

- парентеральний (найчастіше через брудні шприці чи голки серед споживачів ін'єкційних наркотиків, при медичних маніпуляціях з нестерильним інструментарієм, переливанні інфікованої крові чи її продуктів);
- статевий (гомо- та гетеросексуальні контакти);
- від ВІЛ-інфікованої матері до дитини (інфікування відбувається внутрішньоутробно, під час пологів та при вигодовуванні грудним молоком).

Групи ризику щодо зараження ВІЛ-інфекцією:

- хворі на наркоманію;
- жінки, що займаються комерційним сексом;
- особи, що мають гомосексуальні статеві контакти;
- пацієнти, яким часто переливають кров донорів або її продукти (при гемофілії, під час діалізу тощо);
- пацієнти, якими проведено трансплантацію органів;
- особи, що ведуть невпорядковане статеве життя й ігнорують використання презервативів.

Інкубаційний період триває 2-3 тижні, рідше довше, до 3-8 місяців. Після цього у 30-50% інфікованих розвивається симптом гострої ВІЛ-інфекції, яка включає лихоманку, лімфаденопатію, висипку на шкірі, міалгію тощо. Часто симптоми гострої ВІЛ-інфекції не діагностуються, у деяких хворих ця стадія протікає безсимптомно. Через 1-3 місяці після інфікування в крові з'являються антитіла. Гостра ВІЛ-інфекція переходить в безманіфестну стадію хвороби, яка продовжується 8-10 і більше років, коли людина почуває себе здоровою.

Після цих стадій на фоні все зростаючої імуносупресії розвиваються різні інфекції бактеріальної, вірусної, грибової етіології, які періодично повторюються, мають рецидивуючий характер, хвороба прогресує, розвивається СНІД. Середня тривалість життя інфікованої людини становить близько 12 років, однак, вона значною мірою залежить від стратегії специфічного лікування.

Основну увагу в лікуванні ВІЛ-інфекції приділяють антиретровірусній терапії. Лікування спрямоване на пригнічення репродукції вірусу в організмі, яке приводить до відновлення клітин імунної системи і покращенню стану/якості життя хворого та продовженню тривалості життя [10,35,4,37].

1.1.1. Особливості поширення епідемії ВІЛ/СНІДу в Україні

Україна сьогодні посідає одне з перших місць серед країн європейського регіону за кількістю ВІЛ-позитивних осіб. За офіційними даними, на початок 2018 р. в країні проживало 244 000 ВІЛ-позитивних людей. Кожен сотий громадянин України у віці від 15 до 49 років інфікований ВІЛ, що є одним із найвищих показників серед країн регіону.

За даними Європейського центру з контролю та профілактики захворюваності та Європейського регіонального бюро Всесвітньої організації охорони здоров'я, регіон Східної Європи та Центральної Азії, до якого територіально належить Україна, єдиний у світі, де продовжує зростати кількість нових випадків ВІЛ-інфекції та смертей від СНІДу.

Епідемія ВІЛ-інфекції в Україні на сучасному етапі характеризується переважним ураженням осіб працездатного віку зі зростанням частки вікової групи старше 50 років серед нових випадків захворювання. ВІЛ-інфекція поширюється переважно статевим шляхом, але все ще залишається сконцентрованою в ключових щодо інфікування ВІЛ групах населення.

Протягом 2018 р. в Україні щодня реєстрували 50 випадків захворювання на ВІЛ-інфекцію, 24 – захворювання на СНІД і дев'ять випадків смерті від хвороб, зумовлених СНІДом.

Згідно з офіційними статистичними даними за період 1987 – травень 2019 р., у країні офіційно зареєстровано 341 084 випадки ВІЛ-інфекції серед громадян України, зокрема 114 487 випадків захворювання на СНІД і 49 751 випадок смерті від захворювань, зумовлених СНІДом.

Станом на 01.04.2019 у закладах охорони здоров'я під медичним наглядом перебувало 142 076 ВІЛ-інфікованих громадян України (показник 336,5 на 100 000 населення), зокрема 46 987 хворих із діагнозом «СНІД» (111,3).

Найвищі рівні поширеності ВІЛ-інфекції зареєстровано в Одеській (898,3 на 100 000 населення), Дніпропетровській (792,6), Миколаївській (743,5) областях, м. Київ (479,0), Київській (447,9), Херсонській (420,1) та Чернігівській (420,4) областях (рис. 2) (за даними центру громадського здоров'я епідемічна ситуація з ВІЛ-інфекції в Україні станом на 01.04.2019 [37]).

1.1.2. Лабораторна діагностика ВІЛ-інфекції

Незважаючи на те, що імунна система головний об'єкт нападу з боку ВІЛ, вона сама реагує на вірус і його антигени шляхом утворення специфічних антитіл і сенсibiliзованих лімфоцитів-ефекторів. Після зараження, через 1,5-2 місяця, а в більшій частині ВІЛ-інфікованих цей період затягується до 6-9-12 місяців, в організмі інфікованих осіб з'являються антитіла до різноманітних білків ВІЛ. З початку визначаються Ig M, а потім Ig G [10].

Важливим моментом при ВІЛ - інфекції є висока концентрація вірусу в перші місяці від початку захворювання і до останніх її стадій, коли в 1 мл крові може бути від 1000 до 10000 інфекційних доз вірусу. Динаміка гуморальної імунної відповіді на ВІЛ залежить від багатьох чинників: дози вірусу при інфікуванні, механізму зараження, наявності «ко-факторів», що визначають тривалість латентного стану вірусу.

Імунна система, незважаючи на супресивну дію ВІЛ, на перших етапах інфекції активно пригнічує репродукцію вірусу, і тому вірусні антигени не вдається виявити через 8 тижнів після інфікування, протягом місяців і років безсимптомного розвитку захворювання. Проте оскільки ВІЛ цілком не підпадає під контроль нормальних імунних процесів, поступово виникають і накопичуються порушення нормальної діяльності імунної системи. До процесу ВІЛ-інфекції поступово починають приєднуватися різноманітні патологічні механізми, що призводять до остаточної руйнації різноманітних клітин і систем організму. ВІЛ-інфекція завжди (на сучасному рівні лікування і профілактики) закінчується летально, незалежно від тривалості захворювання

Однак, описані випадки генетично детермінованої стійкості до інфікування ВІЛ, або більш м'якого прогресування у випадку інфікування. Це пов'язано з мутацією $\Delta 32$ гена CCR5 та утворенням стоп-кодона у результаті чого не синтезується поверхневий протеїн CCR5 (0,1 % представників білої раси резистентні до інфікування ВІЛ [10].

До специфічних прогностичних маркерів ВІЛ-інфекції відноситься визначення вірусного антигену p24/25, визначення антитіл до p24/25. Антиген p24/25 визначається на ранній стадії ВІЛ-інфекції до періоду сероконверсії, потім зникає і знову з'являється на стадії клінічних проявів ВІЛ - інфекції /СНІД, коли знову починається активна репродукція вірусу. На стадії СНІДу визначення в крові p24/25 є «пізнім» прогностичним маркером прогресування захворювання. Встановлено, що антитіла до p24/25 починають вірогідно знижуватися безпосередньо перед або після виникнення симптомів захворювання, тобто перед проявом СНІД- асоційованого комплексу (САК) або СНІДу. Стійке зниження титру антитіл до p24/25 у того самого пацієнта в 4 рази, або відсутність антитіл до p24/25 - погана прогностична ознака. Крім того, маркерами моніторингу є визначення кількості субпопуляцій Т-лімфоцитів (хелперів і супресорів), а також їхнє співвідношення, визначення РНК ВІЛ або ДНК провірусу ВІЛ (останні визначаються методом ПЛР),

визначення маркерів опортуністичних інфекцій. Лабораторний моніторинг розроблений для задоволення двох основних вимог: забезпечення як можна більш точної оцінки клінічної ситуації для кожного пацієнта; забезпечення постійного, ефективного спостереження доступного для можливо більшого числа пацієнтів.

Виявлення і реєстрація перших випадків ВІЛ-інфекції / СНІД сприяли розвитку методів діагностики цієї інфекції: імунологічних (у тому числі, серологічних), вірусологічних, гематологічних тощо. Сучасні стратегії лабораторної діагностики ВІЛ-інфекції базуються, насамперед, на методах індикації вірусу, його антигенів, генетичного матеріалу, інших компонентів вірусу, а так само на виявленні противірусних антитіл.

В основі вірусологічних методів лежить культивування лімфоцитів, отриманих від хворого або носія, можливо сокультування їх із стимульованими лімфоцитами від неінфікованих осіб або з чутливими лініями клітинних культур *in vitro*. Культури клітин періодично тестують на наявність зворотної транскриптази ВІЛ і / або вірусного антигену. Проте, виділити і ідентифікувати вірус вдається не завжди, що пов'язано з транзиторним характером віремії, а так само з непостійною експресією ВІЛ. Вірус і його антигени легко виявляти там, де їхня концентрація достатньо висока. Вірусологічні методи потребують тривалого часу і специфічних умов для ідентифікації (електронна, люмінесцентна мікроскопія), високої кваліфікації виконавців, спеціалізованих, добре обладнаних лабораторій, що мають право працювати зі збудниками 1-2 групи. В той же час вірусологічні методи складні і малопродуктивні, у більшості випадків вони використовуються для наукових досліджень. [28,21]

Досягнення в області молекулярної біології і генетики дали можливість використовувати гено-інженерні методи в діагностиці ВІЛ-інфекції. Методи ПЛР, гібридизації нуклеїнових кислот і інших молекулярно-біологічних методів, дозволяють виявити геном ВІЛ,

вбудований у геном лімфоцитів, при наявності генів вірусу в одній з 5000 клітин у період відсутності в крові антитіл.

У загальному переліку лабораторних досліджень, що забезпечують виявлення інфекції, провідна роль належить методам серологічної діагностики, спрямованим на визначення антитіл до ВІЛ за допомогою діагностичних тест-систем – спеціальних наборів реактивів для виявлення маркерів інфекції. Матеріалом для серологічних досліджень у принципі може бути сироватка (плазма) крові, слина, слізна рідина, СМР, сеча, секрети статевих органів, тобто всі біологічні рідини, у яких може знаходитися ВІЛ, проте найбільше широке використання в якості матеріалу для лабораторного дослідження одержала сироватка крові. Використовуються імуноферментний аналіз (ІФА), хімілюмінесцентні аналізи (ІХЛА, ЕХЛА) радіоімунний аналіз (РІА), аглютинаційні реакції, імунофлюоресцентні та інші [20,21,28].

Лабораторну діагностику ВІЛ-інфекції можна здійснити непрямыми (імунологічними) і прямими методами, заснованими на визначенні антигенів і генетичного матеріалу ВІЛ.

Непрямі методи діагностики ВІЛ:

1. Імуноферментний аналіз.
2. Хімілюмінесцентний аналіз.
3. Імунний блот.

Прямі методи діагностики ВІЛ:

1. Виділення ВІЛ у культурі клітин.
2. Визначення генетичного матеріалу ВІЛ.
3. Визначення провірусної ДНК методом ПЛР.
4. Визначення вірусної РНК методом ПЛР.

1.2. Вірусні гепатити

Вірусний гепатит – (лат.hepatitis virosae) становить найбільшу групу серед гепатитів різної етіології – інфекційних захворювань людини, які супроводжуються симптомами загальної інтоксикації і переважним ураженням печінки. Різні форми вірусного гепатиту схожі за клінічною картиною, але відрізняються за етіологією, епідеміологією, патогенезом, наслідками. Цю групу захворювань спричиняє понад 8 збудників – віруси гепатиту А, В, С, D, E, G, TTV, SEN.

Вперше припущення про інфекційну природу катаральної жовтяниці людини висловив 1888р. російський терапевт С.П. Боткін. Збудник гепатиту А у калі хворого був ідентифікований у 1973р.

Вірусна природа гепатиту В була доведена в 1963 р. у США, коли американський біохімік Б. Блумберг виділив так званий австралійський антиген, що виявився поверхневим антигеном вірусу гепатиту В (HBsAg) у 1970р. американський науковець Д. Дейн виявив вірус гепатиту В у крові і клітинах печінки.

У 1977р. відкрито вірус гепатиту D, що спричиняє гепатит-дельта тільки за наявності у хворого HBsAg.

Наприкінці 80-х років ХХ ст. групі американських спеціалістів вдалося виділити й ідентифікувати генوم вірусу гепатиту С і розробити тест-систему для виявлення специфічних антитіл до цього збудника.

Вірус гепатиту Е був виявлений у 1987 р.

У 1995р. від хворого на криптогенний гепатит методом полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) виділений новий штам вірусу – G.

У 1997р. група японських учених за допомогою одного з варіантів ПЛР виявила ДНК нового вірусу у хворого з посттрансфузійним гепатитом невідомої етіології і назвали його TTV.

Останнім (навесні 2000 р.) був ідентифікований вірус гепатиту – SEN.

Виділяють декілька класифікацій вірусного гепатиту за різними ознаками:

- за збудником: А, В, С, D, E, G, TTV, SEN, невстановленої етіології;

- за клінічними формами: жовтянична, безжовтянична, холестатична, субклінічна (інапарантна), фульмінантна;
- за перебігом – гострий, затяжний, хронічний;
- за ступенем тяжкості – легкий, середньої тяжкості, тяжкий, дуже тяжкий.

Серед ускладнень гепатиту найбільше значення мають гостра печінкова енцефалопатія (I, II, III, IV стадії), геморагічний синдром, гепаторенальний синдром, загострення (клінічне, біохімічне), функціональні та запальні захворювання жовчних шляхів.

Наслідки захворювання – повне одужання, залишкові явища (астеновегетативний синдром, гепатомегалія), затяжна реконвалесценція, гіпербілірубінемія, хронічний гепатит, цироз печінки, первинний рак печінки.

В основу сучасної класифікації хронічного гепатиту, затвердженої на Всесвітньому конгресі гастроентерологів у Лос-Анджелесі в 1994 році, покладено етіологічний чинник (B, C, D, G, мікс-гепатит, неверифікований), стадію захворювання (реплікації, інтеграції) та гістологічну активність процесу (4 стадії фіброзу та 3 стадії гістологічної активності за шкалою METAVIR) [7,8,11].

1.2.1 Гепатит В

Гепатит В (лат. hepatitis B) – антропонозне інфекційне захворювання з парентеральним механізмом зараження, яке зумовлюється вірусом гепатиту В, перебігає у гострій або хронічній формі із симптомами ураження печінки (гепатит), з порушенням обміну речовин, часто із жовтяницею.

Збудник гепатиту В є ДНК-вмісний вірус, що належить до родини гепаднавірусів (Hepadnaviridae), роду орто гепадновірусів (Orthohepadnovirus). Вірус гепатиту В має сферичну форму складається з двошарової фосфоліпідної оболонки та серцевини. Поряд з повноцінними віріонами, кількість яких сягає 10^9 в 1 мл крові, при дослідженні під

електронним мікроскопом дуже часто виявляють частки, що складаються тільки з поверхневого антигену HBsAg вірусу які можуть бути сферичної 18-22 нм та тубулярної форми 20/700 нм.

В центрі вірусу гепатиту В знаходиться нуклеокапсид, який має форму двадцятигранника (ікосаедра) діаметром 28 нм і побудований із молекул серцевинного антигену HBcAg. До складу нуклеокапсиду входять: геном вірусу кільцева двонитчаста ДНК, кінцевий білок та фермент ДНК-полімераза .

З різною частотою і на різних етапах інфекційного процесу в організмі заражених вірусом гепатиту В можна виявити 4 антигени вірусної частинки:

- HBsAg - поверхневий антиген HBV, що входить до складу зовнішньої оболонки віріону і є важливим маркером інфекції;
- HBcAg - серцевинний антиген, міститься в серцевині частинки Дейна і в ядрах гепатоцитів, тому в крові не виявляється;
- HBeAg - розміщений у серцевині віріону, однак виявляється і в крові хворих та вірусоносіїв;
- HBxAg недостатньо вивчений, припускають, що він впливає на ракову трансформацію гепатоцитів.

Збудник гепатиту В надзвичайно стійкий у зовнішньому середовищі, стійкий до високих температур. Під час нагрівання до температури 100 С протягом 30 хв. повністю інактивується. Вірус стійкий до дезінфекційних засобів. Згубно діють на вірус водню пероксид, хлорамін, формалін. Добре зберігається за низьких температур (у разі заморожування - 15-20 років). У цільній крові і її препаратах збудник зберігається роками. УФО на вірус не впливає.

Інфікування людини відбувається під час безпосереднього проникнення HBV у кров або через слизові оболонки чи пошкоджені шкірні покриви. Через кровоносні судини вірус потрапляє до гепатоцитів, в яких відбувається його репродукція.

Розвиток інфекційного процесу може відбуватися двома шляхами: реплікативним та інтегративним. Реплікативна форма інфекції веде до розвитку гострого або хронічного гепатиту і цирозу печінки, інтегративна – до розвитку «здорового» вірусонасійства, неактивного хронічного гепатиту, цирозу, первинної гепатокарциноми.

Для гострого гепатиту В важливим серологічним маркером інфекції є HBsAg. Антиген виявляється через 3-5 тиж. від моменту інфікування, частіше без інших маркерів. Час первинного виявлення HBsAg залежить від інфікуючої дози, особливостей імунної системи організму і чутливості методу індикації. В інкубаційний, продромальний і на початку жовтяничного періоду відбувається поступове наростання титру HBsAg, який переважно досягає свого максимуму після початку підвищення рівня трансаміназ. HBsAg вдається виявити майже у всіх хворих на гострий гепатит В на початку захворювання (лише близько 5% хворих елімінують HBsAg до появи симптомів жовтяниці). Тривалість циркуляції антигену значно коливається і становить у середньому 70-80 днів від початку жовтяничного періоду.

Елімінація HBsAg і поява антитіл до нього є неодмінними умовами одужання. Anti-HBsAg виявляється в сироватці крові хворих не одразу після зникнення HBsAg. Стадію, протягом якої не вдається тестувати ні HBsAg, ні anti-HBsAg, називають періодом «вікна». У цей період єдиним маркером, що виявляється в сироватці крові, є anti-HBsAg. Час першого виявлення після зникнення HBsAg коливається від 3-4 тижнів до року. Швидке зникнення (у перші дні жовтяничного періоду) HBsAg з появою anti-HBsAg, які представлені IgM, є несприятливою прогностичною ознакою. Така ситуація часто передуює фульмінантному гепатиту.

Anti-HBsAg іноді зберігаються довічно. Протягом подальших декількох років після перенесеного гострого гепатиту В може відбуватися поступове зниження концентрації anti-HBsAg до рівнів, недоступних до виявлення. Anti-HBs класу IgM виявляються через 1-2 тижні після первинної індикації HBsAg. Ці антитіла циркулюють у крові всіх хворих на гострий

гепатит В протягом 2-18 місяців, а в 10-20% є єдиним серологічним маркером інфекції. Наявність anti HBc IgM у більшості випадків свідчить про гостру інфекцію, проте не є абсолютним показником цього. Anti-HBc IgM можуть бути виявлені й у частини хворих на хронічний гепатит В. Anti-HBc класу IgG з'являються одразу ж за anti-HBc класу IgM і наявні практично в усіх осіб, що перехворіли на гепатит В, довічно.

У процесі руйнування інфікованих гепатоцитів із них виводять вірусні антигени – HBsAg, HBcAg, HBeAg, які своєю чергою стимулюють імунну систему до утворення специфічних антитіл – відповідно anti-HBsAg, anti-HBcAg і anti- HBeAg. Діагноз найчастіше підтверджують після виявлення в сироватці крові HBsAg, HBeAg, anti-HBcAg. Для специфічної діагностики достатньо знайти HBsAg. За відсутності HBsAg важливе діагностичне значення має виявлення anti-HBcAg класу IgM. У більшості хворих наприкінці першої або на початку другої декади жовтяниці з крові зникають HBsAg і HBeAg. Тривале виявлення цих антигенів характерне для тяжкого перебігу хвороби або свідчить схильність до переходу в хронічний процес. Особи, в яких виявляють HBeAg, є особливо небезпечним джерелом збудника.

Про активне розмноження вірусу свідчать наявність ДНК HBV (визначають у тесті ДНК-гібридизації) і позитивна ДНК-полімеразна реакція. У хворих на гепатит В у розпалі захворювання позитивний тест ДНК-гібридизації вдається зареєструвати практично завжди, тоді як позитивну ДНК-полімеразну реакцію – значно рідше. Для діагностики гепатиту В, оцінювання характеру й тяжкості процесу також використовують біохімічні аналізи крові (визначення рівня білірубіну, АлАТ, АсАТ, білкових фракцій крові, тимолової проби тощо).

Серед профілактичних заходів першочергове значення мають заходи, спрямовані на запобігання зараженню HBV під час переливання крові й проведення лікувально-діагностичних парентеральних втручань. Зниженню захворюваності на посттрансфузійний гепатит В може сприяти широке

впровадження в службу переливання крові високочутливих методів індикації HBsAg у донорів, а також значне звуження показань до переливання крові та її препаратів [7,2,11,33,36,39].

1.2.2. Лабораторна діагностика вірусного гепатиту В

При клінічному лабораторному аналізі різних форм вірусного гепатиту В виявляють низку серологічних маркерів цієї хвороби – структурні антигени вірусу (HBs-антиген та HBe-антиген), а також специфічні антитіла класів IgM та IgG до HBcore-, HBs- і HBe-антигенів. HBsAg – основний маркер інфікування вірусом гепатиту В. Це структурний білок, який відповідає за адсорбцію вірусу на клітинах гепатоцитів. Це перший маркер, який визначається в крові через 3-5 тижнів після інфікування і до появи клінічних симптомів. При гострому гепатиті цей маркер виявляється ще протягом кількох місяців в достатньо високих концентраціях. При сприятливому перебігу хвороби HBsAg зникає через 4-6 місяців після зараження. Якщо цього не відбувається, то діагностують хронічний гепатит.

Антитіла до HBsAg у хворих гострим гепатитом В з'являються в крові після зникнення HBsAg. Поява цих антитіл в сироватці крові обстежуваного свідчить про закінчення інфекційного процесу. Період «вікна» (після зникнення HBsAg і до появи анти-HBs) коливається від 3 місяців до року.

Антитіла до HBcore антигена – це найбільш ранній антитільний маркер гепатиту В, який може бути виявлений в інкубаційному періоді. Анти-HBcore антитіла класу IgM являються маркером активної вірусної реплікації та свідчать про гостру фазу гепатиту В. У фазі «вікна» антитіла класу IgG проти HBcore антигену з'являються після HBcore IgM або одночасно з ними, досягають максимальних титрів через 5-6 місяців після появи HBsAg і циркулюють протягом всього життя в досить високих титрах. В період «вікна» єдиним маркером інфекції являються анти-HBcore антитіла обох класів.

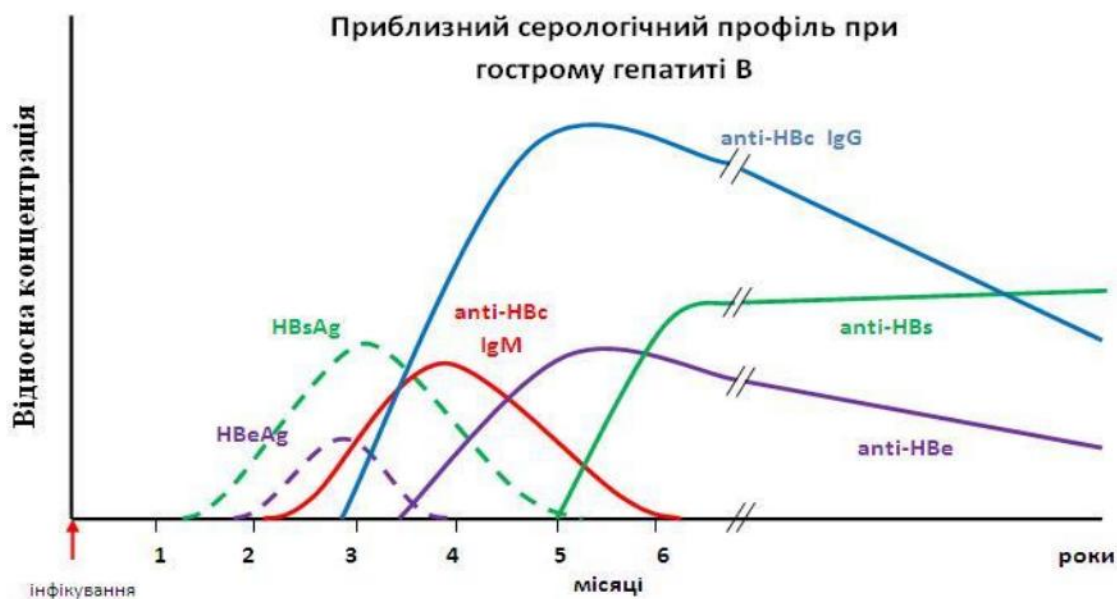


Рис 1.1 Приблизний серологічний профіль при гострому гепатиті В

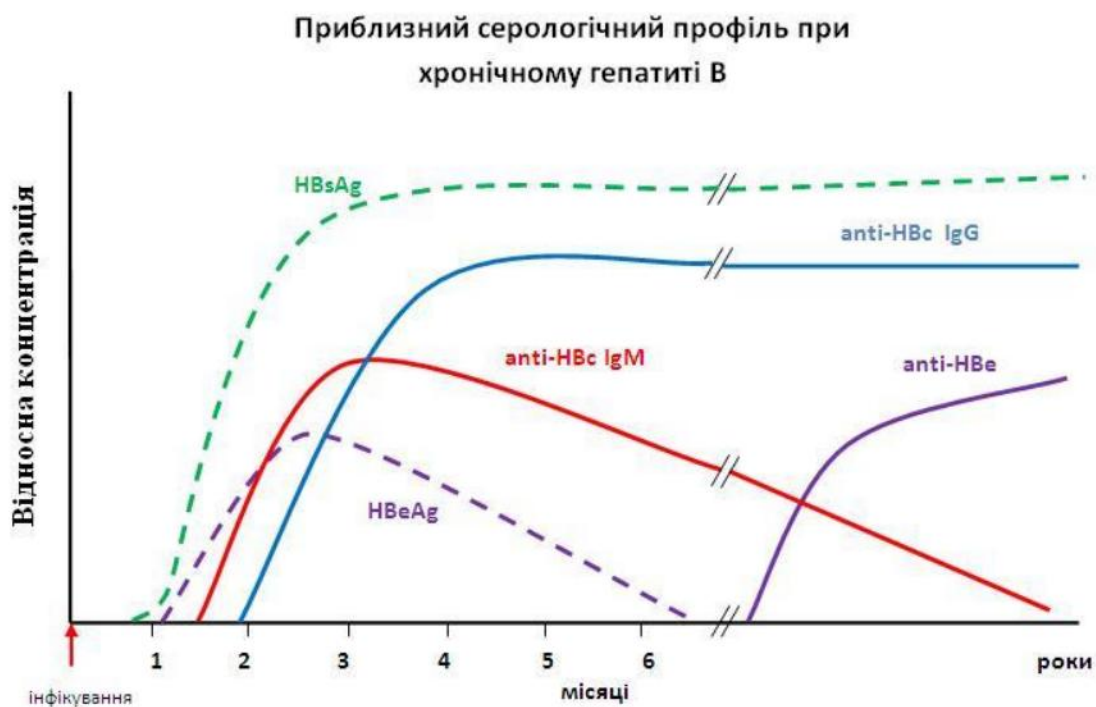


Рис 1.2 Приблизний серологічний профіль при хронічному гепатиті В

Одним із головних серологічних маркерів вірусу гепатиту В в службі крові є HBsAg (поверхневий антиген вірусу гепатиту В). Виявляється HBsAg в гострий період захворювання [20;26;41].

Непрямі методи діагностики ВГВ:

1. Імуноферментний аналіз.

2. Хемілюмінесцентний аналіз.

Прямі методи діагностики ВГВ:

1. Виділення ВГВ у культурі клітин.
2. Визначення вірусної ДНК методом ПЛР.

1.2.3. Гепатит С

Гепатит С (лат. hepatitis C) – поширена інфекційна хвороба з парентеральним механізмом передачі, що характеризується ураженням печінки і переважно хронічним перебігом.

Збудника гепатиту С (HCV- hepatitis C virus) раніше позначали як вірус, який спричиняє гепатит ні-А, ні-В, що передається парентерально. HCV був ідентифікований 1989 р. групою американських дослідників під керівництвом М. Хоутона шляхом клонування геному і встановлення його належності до самостійного вірусного агента.

Збудник гепатиту С (ВГС) належить до родини Флавівірусів (Flaviviridae), роду – Гепацивірусів (Hepacivirus).

Віріон сферичної форми діаметром 55-60 нм, має ліпідно-білкову суперкапсидну оболонку .

Геном HCV представлений одноланцюговою молекулою РНК позитивної полярності, завдовжки близько 9400 нуклеотидів. Геном складається із двох ділянок, що відповідно кодує структурні та неструктурні білки вірусу.

Встановлено, що зона 5' геному HCV, що кодує структурні білки вірусу, коротша за аналогічні зони флаві- і пестивірусів. Ця зона контролює синтез чотирьох білків: кор-білка – нуклеокапсидного протеїду (p19), двох оболонкових білків, кодованих зоною E1 і E2, і невеликого білка з невстановленою функцією. Білки, синтезовані з ділянок гена E1 і E2, вважають глікопротеїдами зовнішньої оболонки HCV. Вони сприяють прикріпленню і проникненню вірусу в клітину. Білки, кодовані структурною зоною РНК HCV, можуть бути мішенню для нейтралізуючих і протективних

антитіл і, можливо, будуть використані для виготовлення вакцини проти гепатиту С.

Зона РНК HCV, що кодує неструктурні білки, складається з таких ділянок: NS2, NS3, NS4a-b, NS5a-b.

Особливістю HCV є надзвичайно висока гетерогенність його геному. Порівняльний аналіз РНК ізолятів HCV, виділених не тільки в різних країнах або в межах однієї держави, але навіть від одного і того ж хворого, виявив їх варіабельність.

Гепатит С – антропонозна інфекція. Природного резервуару HCV не встановлено. Джерелом збудника є хворі на гострий та хронічний гепатит С, головним чином особи з безсимптомним перебігом хвороби (вони становлять 60-70%), в яких гепатит не діагностують. Найчастіше на гострий гепатит С хворіють особи віком від 15 до 30 років.

Гепатит С є найпоширенішою хворобою печінки. На сьогодні у світі кількість хронічних носіїв HCV варіює у межах від 150 до 500 млн. осіб. Гепатит С нерівномірно поширений у різних регіонах планети, і навіть в окремих країнах. Щорічний показник захворюваності на гострий гепатит С в Європі становить 1-3 на 100 000 населення, хоча насправді кількість усіх HCV-інфікованих набагато перевищує ці цифри (на 1 випадок жовтяничної форми припадає 6 випадків безжовтяничної). В Україні показник захворюваності становить приблизно 1,7 на 100 000. У світі нараховують понад 170 млн. інфікованих вірусом гепатиту С, що становить 3% населення планети. В Європі зареєстровано 9 млн. інфікованих. Поширеність гепатиту С в Україні – 2,4% захворюваність станом на 2006 рік – 2,18 на 100 000.

Припускають існування близько 11 генотипів HCV, але найбільше вивчені 6 основних генотипів: 1 (субтипи а, b, с), 2 - (а, b), 3- (а, b), 4-6. Генотип HCV може визначати клініко-лабораторні показники й ступінь тяжкості перебігу захворювання. Так, генотипи 1a, 1b, 2a-b, 3a поширені в усьому світі, вони домінують у Європі, Північній Америці, Азії й Океанії.

В Європі зустрічають генотипи 1a, 1b, 2a, 2b, 2c, 3a, з яких найпоширеніші 1b,3a. В Україні найчастіше реєструється генотип 1b – близько 50% хворих на гепатит С, рідше – генотип 3a – 35-40%. Частка інших генотипів (1a, 2a та мікст-форми) –10-15%.

Поширення гепатиту С у різних групах населення має деякі відмінності в частоті виявлення того або іншого генотипу залежно від шляху інфікування. Так, в європейських країнах генотипи 1a і 3a асоціюються із зараженням, що відбулося після внутрішньовенного введення наркотиків, 1b – після переливання контамінованої HCV крові або плазми.

Характерною особливістю HCV-інфекції є те, що у 20% випадків вона перебігає як гострий гепатит С, а в 70-80% – як хронічний гепатит С. Потрапивши в кров, вірус проникає в гепатоцит, який і стає основним місцем його реплікації. Окрім гепатоцитів HCV може уражувати мононуклеари крові. Існує три різновиди вірусемії. Транзиторна вірусемія (нетривала, з подальшим видаленням вірусу з організму) характерна для гострого перебігу гепатиту С. Персистувальна вірусемія типова для хронічного гепатиту С – триває протягом усього періоду хвороби. Поворотну вірусемію спостерігають у хворих на початку захворювання з подальшим зникненням вірусу із крові і появою РНК HCV знову через декілька місяців.

Серед критеріїв гострої фази гепатиту С виділяють:

- наявність моменту інфікування за даними епідеміологічного анамнезу (факультативна ознака);
- синдром гострого гепатиту за відсутністю ознак подібного захворювання в минулому;
- виявлення ознак незначної жовтяниці - субіктеричність білкових оболонок (склер), потемніння сечі та посвітління калу, пожовтіння слизових оболонок та шкіри (факультативна ознака);
- значне збільшення активності АлАТ (у 5 разів і більше);

- виявлення anti-HCVcore IgM та IgG з показником коефіцієнту anti-HCV core IgG/IgM у межах 3-4, за відсутності anti-HCV до вірусного білка NS4;
- виявлення HCV-РНК у крові у високій концентрації (є раннім маркером гепатиту С і визначається методом ПЛР).

До критеріїв латентної фази хронічного гепатиту С належать:

- наявність в анамнезі симптомів гострої фази(факультативна ознака);
- відсутність клінічних проявів (хоча можлива гепатомегалія);
- помірне підвищення активності АлАТ (менше ніж у 3 рази);
- виявлення anti-HCV core IgG за відсутності або низького титру anti-HCVcore IgM (можливе виявлення anti-HCV до NS4);
- непостійне виявлення HCV-РНК (у низькій концентрації).

Серед критеріїв переходу у фазу реактивації виділяють:

- наявність у минулому ознак гострої фази (факультативна ознака);
- поява клінічних ознак хронічного гепатиту С;
- повторне підвищення активності АлАТ (більше ніж у 3 рази);
- постійне виявлення anti-HCV core IgM (переважно у високих титрах) за наявності anti-HCV до NS4 (зниження коефіцієнту anti-HCV core IgG/IgM);
- зростання вмісту HCV-РНК у сироватці крові [7;2;3;11;23;24;25;31;33,36].

1.2.4. Лабораторна діагностика вірусного гепатиту С

У складі геному ВГС виділяють зони, які кодують структурні та неструктурні білки. До структурних антигенів вірусу належать нуклеокапсидний білок core та два білки зовнішньої оболонки – E1 та E2. Неструктурні білки представлені комплексом білків з ферментативною активністю - NS2, NS3, NS4a, NS4b, NS5a, NS5b. У відповідь на інфікування вірусом в організмі продукуються специфічні антитіла до всіх білків вірусу.

У процесі імунної відповіді при інфікуванні вірусом гепатиту С антитіла до неструктурного білку NS4 виявляються досить пізно, через 20-22 тижні після інфікування. В більш ранні строки виявляються антитіла до білків core (c22) та NS3 (c33). У більшості інфікованих першими починають з'являтися антитіла до епітопів білків core та NS3, і лише пізніше до NS4. Окрім того інтенсивність продукції антитіл до білку NS4 у деяких генотипів ВГС нижча, водночас кількість антитіл до білків core та NS3 висока для всіх генотипів. На сьогоднішній день в тест-системах третього покоління, що широко використовуються для скринінгу донорської крові використовуються рекомбінантні білки з областей core, NS3, NS4 та NS5I.

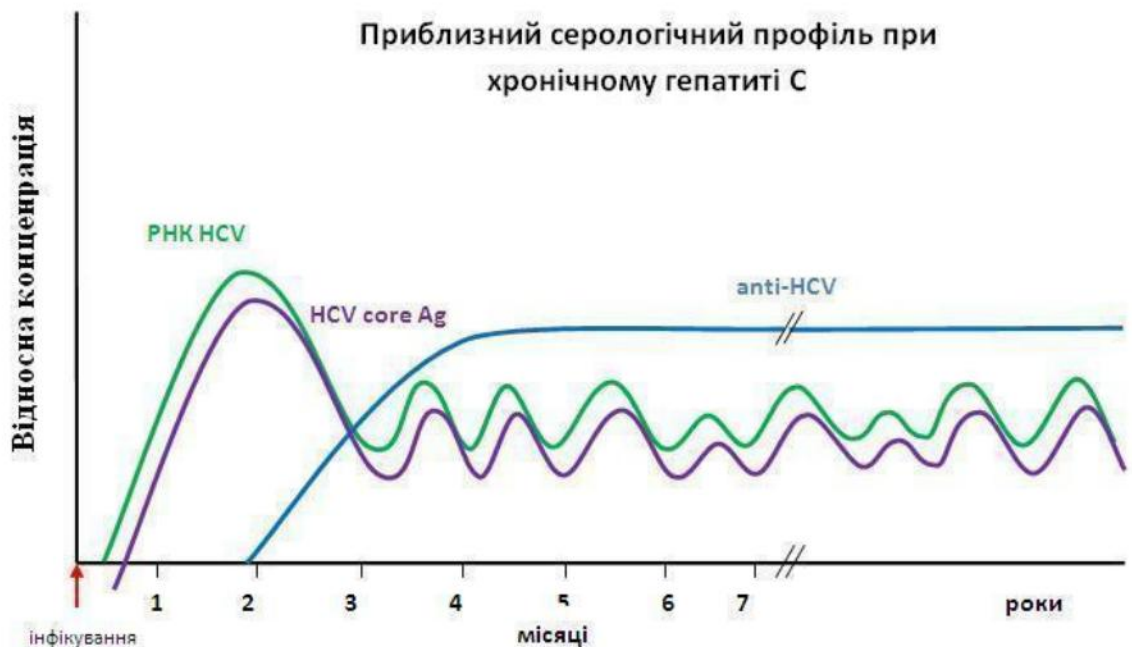


Рис 1.3 Приблизний серологічний профіль при хронічному гепатиті С

Діагностика вірусного гепатиту С заснована на визначенні антитіл до білків HCV за допомогою імуноферментного аналізу (ІФА) та хемілюмінесцентного аналізу (ІХЛА, ЕХЛА). При гострому гепатиті С переважно визначаються IgM і IgG антитіла проти core-білка HCV. При хронічному гепатиті С визначаються антитіла класу IgG проти структурних і неструктурних білків вірусу. Крім того, в діагностичних цілях визначають РНК вірусу за допомогою ПЦР. Як праймери використовують

олігонуклеотиди, відповідні консервативним ділянкам нуклеотидної послідовності РНК вірусу. Генотипи HCV також визначають за допомогою полімеразної ланцюгової реакції.

У широких масштабах проводять обов'язковий скринінг донорської крові на присутність антитіл до HCV. Вірусний гепатит є ко-інфекцією у ВІЛ-інфікованих осіб. До 90% ВІЛ-інфікованих осіб мають в крові антитіла до HCV. [22,4,11,16,17,18, 19,20,21,26,41]

Непрямі методи діагностики ВГС

1. Імуноферментний аналіз.
2. Хемілюмінесцентний аналіз.

Прямі методи діагностики ВГС

1. Виділення ВГС у культурі клітин.
2. Визначення вірусної ДНК методом ПЛР.

1.2.5. Епідемічний стан та поширення вірусних гепатитів в Україні

Вірусні гепатити В і С – причина 96% всіх смертей, зумовлених гепатитами. Згідно з даними ВООЗ, близько 325 млн. людей у світі живуть з хронічною інфекцією, спричиненою вірусом гепатиту В або вірусом гепатиту С. 57% випадків цирозу печінки та 78% випадків первинного раку печінки зумовлені впливом вірусних гепатитів В і С. У 2015 році 1,34 млн. осіб померли від вірусних гепатитів. Це більше, ніж кількість померлих від туберкульозу та ВІЛ/СНІДу. Тільки 9% людей із хронічним вірусним гепатитом В та 20% із хронічним вірусним гепатитом С знають про свій діагноз. За оцінками національних експертів в Україні 5% (2 107 660) населення інфіковані гепатитом С, але під медичним наглядом на початку 2019 року перебувало лише 5,4% (82 654) осіб. Щодо гепатиту В, то відповідно до оцінок експертів, у нашій державі інфіковано 1,5% (632 298) осіб, з яких лише 3,7% (23 687) осіб на початок 2019 року перебували під медичним спостереженням.

За 5 місяців 2020 року в Україні діагностовано 395 випадків гострого гепатиту В, з них 56 тільки за травень (у 2019 році за цей же період – 535 і 102 випадки відповідно), 476 – хронічного гепатиту В (у 2019 році – 647). Щодо вірусного гепатиту С, то статистика така – за 5 місяців 2020 року – 2070 випадків хронічного гепатиту С (2403 випадки у 2019 році), 165 з яких – за травень 2020 року (449 у 2019 році). Загалом – 2571 випадок хронічних вірусних гепатитів з січня по травень 2020 року (3071 випадок у 2019 році), що менше на 16,2% в порівнянні із аналогічним періодом минулого року. У травні 2020 року діагностовано хронічні вірусні гепатити у 203 людей, що у 2,85 рази менше, ніж в травні 2019 року (577 випадків).

Близько 40% усіх трансплантацій печінки у США в дорослих пацієнтів проводяться з приводу гепатитів В і С. У Скандинавії та Франції рівень інфікування вірусом гепатиту В є найнижчим у Європі і варіює від 0,1 до 0,4%. У решті країн Європи він становить 2-7%.

У динаміці захворюваності на гострий гепатит В в Україні можна визначити 3 періоди: зростання захворюваності (1973-1989), нестійка епідемічна ситуація (1990-2000), зниження захворюваності (із 2001-го року і до сьогодні). Протягом 2001-2011 років захворюваність на гепатит В в Україні знизилася в усіх групах населення, що пов'язано із запровадженням обов'язкової вакцинації дітей згідно з Національним календарем щеплень.[7,25,41]

1.3. Сифіліс

Сифіліс – хронічне інфекційне захворювання, спричинене блідою трепонемою, за якого ураження зазнають усі органи та системи людського організму, шкіра та слизові оболонки.

Свого часу ця хвороба мала багато назв, що залежало, зокрема, від того, з якої країни її було завезено. Італійці називали сифіліс іспанською хворобою, французи – неополітанською, росіяни та поляки – французькою. Нині офіційними є три назви: хвороба Гофмана (за прізвищем автора, який

відкрив збудник сифілісу), люес (свого часу Бетенкур дав цій хворобі назву «люес венерикум» – венерична хвороба) та сифіліс.

Збудник – бліда трепонема (*Treponema pallidum*), відкрита 3 березня 1905 р. Шаудином і Гофманом, належить до порядку Spirochaetales, родини Spirochaetaeaceae, роду *Treponema*.

Бліда трепонема, яка отримала свою назву завдяки тому, що практично не забарвлюється під час фарбування, – це факультативний анаероб довжиною 4-12 мкм, спіралеподібної форми з однаковими за висотою завитками й однаковою відстанню між ними. Бліда трепонема здійснює дуже плавні коливальні, хвилеподібні, складальні рухи, залишаючись на місці. Атиповими формами трепонем є округлі з короткою спіраллю на кінці, зернисті та фокуси розмноження. Збудник досить чутливий до дії чинників зовнішнього середовища, особливо до впливу високих температур, кислот, 96% спирту етилового, кип'ятіння, низькі температури до – 45С не впливають на його життєздатність. Потрібно зазначити, що в крові трепонемі можуть зберігатися впродовж тривалого періоду, а поза макроорганізмом транспортування в L-форми (шароподібні, різного розміру, з гомогенною протоплазмою) та цисти, що є формою стійкого виживання та розмноження. L-форми та цисти стійкі до дії чинників зовнішнього середовища, до антитіл і антибактеріальних препаратів (особливо до того антибіотика, що спричинив їх утворення). Бліді трепонемі знаходили в періендотеліальному просторі, кровоносних і лімфатичних судинах, нервових волокнах, всередині клітин (у цитоплазмі, ядрі). Фагоцитовані трепонемі залишаються життєздатними (ендоцитобіоз), тобто в цьому разі спостерігають незавершений фагоцитоз, завершення якого настає лише після застосування антибактеріальних препаратів.

Шляхи зараження:

1. Статевий (основний), в тому числі під час орогенітальних і анальних статевих контактів: проникнення блідої трепонемі через мікродефекти шкіри та слизових оболонок у разі контакту зі свіжими сифілідами.

2. Побутовий – у разі тісних побутових контактів сифіліс може передаватися дітям, під час поцілунків, укусів за наявності ерозій або мікродефектів на слизовій оболонці ротової порожнини, через інфіковані предмети домашнього вжитку (посуд, виделки, склянки, цигарки, бритву та ін.)
3. Професійний – поширений серед лікарів (стоматологів, акушерів-гінекологів, хірургів, дерматовенерологів, патологоанатомів) і середнього медичного персоналу. Зараження відбувається в разі контакту з ерозивними сифілідами за наявності мікродефектів шкіри рук, через нестерильний медичний інструментарій, при автоксії трупів хворих на сифіліс.
4. Трансфузійний – у разі переливання крові хворого.
5. Трансплацентарний – від хворої на сифіліс вагітної до плоду (вроджений сифіліс).
6. Під час проходження через пологові шляхи за наявності ерозивного сифілісу на слизових оболонках статевих шляхів матері (набутий сифіліс).

При сифілісі формується так званий нестерильний інфекційний імунітет, який є відповіддю організму на наявність в ньому збудника. Він зберігається, доки триває захворювання, та зникає після повного одужання. Інфекційний імунітет при сифілісі зумовлений як клітинними елементами (Т-лімфоцитами-кілерами, фагоцитами), так і гуморальними факторами. У разі «нашарування» нової сифілітичної інфекції розвивається суперінфекція.

Розрізняють такі періоди сифілісу (Рікор):

1. Інкубаційний.
2. Первинний (серонегативний, серопозитивний, латентний).
3. Вторинний (свіжий, рецидивний, латентний).
4. Третинний (активний, латентний).
5. Вроджений (плоду, ранній, пізній, латентний).

Інкубаційний період - проміжок часу від моменту зараження до появи першого клінічного прояву захворювання триває 10-90 діб (у середньому 3-4 тижні). Він може подовжуватися до 4-6 місяців за значної опірності організму, вживання трепонемоцидних антибактеріальних препаратів з приводу інших

патологій у недостатніх для лікування сифілісу дозах і скорочуватися в разі імунодефіцитного стану (онкопатологія, туберкульоз, малярія, цироз печінки, інші тяжкі соматичні патології, алкоголізм, наркоманія тощо).

У цей період немає суб'єктивних і об'єктивних симптомів захворювання [5,40,13].

1.3.1. Лабораторна діагностика сифілісу

Першими після інфікування *T.pallidum* утворюються специфічні антитіла класу IgM, що реєструються з другого тижня після зараження та досягають найвищого рівня в крові на 6-9 тижні. На четвертому тижні після зараження організм починає синтезувати специфічні антитіла класу IgG (період первинного серопозитивного сифілісу). Після успішно проведеного лікування кількість антитіл класу IgG у крові поступово знижується, але в деяких осіб, що перехворіли на сифіліс, імуноглобуліни цього класу можуть зберігатися тривалий час та виявлятися чутливими серологічними методами.

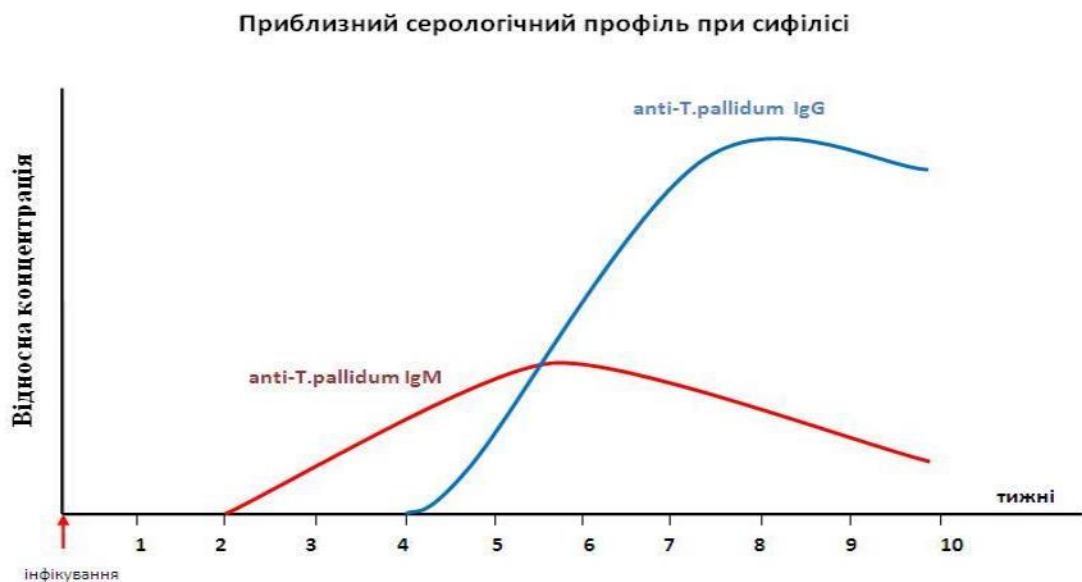


Рис 1.4. Приблизний серологічний профіль при сифілісі

Для лабораторної діагностики сифілісу використовуються прямі та непрямі методи.

Прямі методи діагностики сифілісу:

- мікроскопія в темному полі (ТПМ);

- полімеразна ланцюгова реакція (ПЛР).

Непрямі методи діагностики сифілісу:

Непрямими, або серологічними, називають лабораторні тести, які виявляють антитіла, що утворюються у відповідь на присутність в організмі збудника сифілісу і визначаються в біологічній рідині (цільна кров, сироватка, плазма крові, ліквор, амніотична рідина).

Залежно від використання в непрямих методах відповідного антигену, серологічні методи поділяють на нетрепонемні та трепонемні тести.[16,17,18,19,20,26,30,13]

Нетрепонемні тести.

Найбільш поширеними нетрепонемними тестами є:

- реакція зв'язування комплементу з кардіоліпіновим антигеном (РЗКк);
- реакція мікропреципітації (РМП);
- реакція швидкого визначення плазмових реагінів РІР (RPR) і його аналоги: Venereal Disease Research Laboratory (VDRL), Tolidin Red Unheated Serum Test (TRUST), Unheated Serum Reagins (USR) та інші.

Перевагами нетрепонемних тестів є низька вартість, технічна простота і швидкість отримання результату дослідження. Можливість постановки реакції в кількісному варіанті з визначенням титру антитіл дозволяє використовувати їх у разі реінфекції/рецидиву і для оцінки ефективності терапії. Обмеженням їх застосування є можливість хибнопозитивних результатів при скринінгу популяцій з низькою поширеністю захворювання.

Трепонемні тести.

У трепонемних тестах застосовується антиген трепонемного походження – патогенна бліда трепонема, рекомбінантні білки, отримані генно-інженерним методом або пептиди, отримані шляхом штучного синтезу.

Трепонемні тести можуть використовуватись як для скринінгу окремих груп населення, так і для підтвердження результатів нетрепонемних тестів. Найбільш поширеними є:

- реакція зв'язування комплементу з трепонемним антигеном (РЗКт);

- реакція іммобілізації блідих трепонем (РІБТ);
- реакція імунофлюоресценції (РІФ) в різних модифікаціях;
- імуноферментний аналіз (ІФА);
- реакція пасивної гемаглютинації (РПГА);
- імунохроматографічний метод (ІХГ);
- метод імуноблотингу (ІБТ, Western Blot);
- імунохемілюмінесцентний аналіз (ІХЛІА).

РОЗДІЛ 2

СУЧАСНІ МЕТОДИ ЛАБОРАТОРНОЇ ДІАГНОСТИКИ ТРАНСФУЗІЙНО-ТРАНСМІСИВНИХ ІНФЕКЦІЙ

Лабораторне обстеження донорів в Україні відбувається згідно НАКАЗУ МОЗ України №134 19.02.2013 Про затвердження Порядку скринінгу донорської крові та її компонентів на гемотрансмісивні інфекції .

Перелік маркерів гемотрансмісивних інфекцій, на які проводиться скринінг відповідно до алгоритмів 1 або 2 :

- ВІЛ-інфекція - комбіноване визначення сумарних антитіл до ВІЛ 1/2 та антигену р24 ВІЛ-1, РНК ВІЛ;
- гепатит В - HBsAg, ДНК HBV;
- гепатит С - сумарні антитіла HCV, РНК HCV;
- сифіліс - антитіла до *Treponema pallidum*.

Перелік гемотрансмісивних інфекцій та маркерів, на які здійснюється скринінг донорської крові та її компонентів, може бути розширений за епідемічними показаннями.

Для проведення скринінгу використовуються лабораторні методи:

1. Непрямі імунохімічні методи діагностики:

- імуноферментний;
- імунохемілюмінесцентний;
- електрохемілюмінесцентний;

2. Прямий метод діагностики:

- молекулярно-генетичний. [29].

2.1. Імуноферментний метод (ІФА). Принцип методу

ІФА було розроблено в 70-х роках ХХ століття на перетині імунохімії та інженерної ензимології та являється еволюційним продовженням і

альтернативою радіоімунному аналізу в послідовності серологічних методів діагностики.

На сьогодні ІФА зайняв міцну позицію в діагностиці інфекційної патології людини, тварин та рослин, в онкології та ендокринології.

Основними перевагами ІФА є:

- висока чутливість і специфічність;
- відтворюваність результатів;
- простота виконання;
- доступність та стабільність реагентів;
- гнучкість та можливість модифікації конструкцій;
- експресивність та можливість автоматизації для проведення масових аналізів.

Весь процес імуноферментного аналізу можна умовно поділити на три основні стадії:

- формування специфічного комплексу антиген-антитіло;
- введення в утворений комплекс мітки;
- візуалізація мітки.

З точки зору способу виконання всі методи ІФА можна розділити на дві групи:

- системи, що не потребують розділення компонентів (гомогенні методи): якщо активність мічених молекул, які зв'язані з антитілами, суттєво відрізняється від активності вільних мічених молекул;
- системи, які потребують розділення (гетерогенні методи): отримують дві окремі фракції міченого ліганда - зв'язану з антитілами і вільну, а лише потім вимірюють активність зв'язаних мічених молекул (твердофазний імуноферментний аналіз, ТІФА).

В якості твердої фази в ТІФА використовують 96-лункові полістиролові планшети, які здатні сорбувати макромолекули. В кожній лунці планшету проводиться аналіз окремого зразку.[15,28, 14, 34].



Рис 2.1 ІФА ручний метод ІФА



Рис 2.2 Автоматизований метод

2.1.1. Основні компоненти в ТІФА

Основними компонентами твердофазного ІФА є: імуносорбент - адсорбовані на твердій фазі антигени або антитіла (залежно від цілей аналізу), імуноферментний кон'югат - ковалентно зшиті з ферментом специфічні антитіла або антигени та досліджуваний матеріал - біологічні рідини організму.

В якості антигенів можуть використовуватися очищені нативні антигени мікроорганізмів або їх аналоги - рекомбінантні білки та синтетичні пептиди.

В якості антитіл використовують поліклональні (пул специфічних антитіл, виділених з сироваток тварин) або моноклональні (моноспецифічні антитіла, отримані методами клітинної інженерії) антитіла.

Імуноферментні кон'югати - це ковалентно зшиті молекули антигенів або антитіл з ферментом. Одним із біологічних феноменів, на якому базується ІФА, являється висока каталітична активність ферментів, які використовуються в якості індикатора в ІФА.

Основними ферментними мітками є: пероксидаза хрому - фермент, що найчастіше використовується; містить вуглеводні залишки, що легко

окиснюються періодатом, через які може відбуватися зв'язування ферменту з антитілами або антигеном лужна фосфатаза - дуже стабільний, але дорогий фермент, β -D-галактозидаза - рідко використовується глюкооксидаза - рідко використовується.

Основні варіанти ТІФА:

- непрямий ТІФА;
- ТІФА на основі IgM-захвату;
- "Сендвіч"-ТІФА;
- комбінований IgM-захват;
- конкурентний ТІФА.

2.1.2. Переваги та недоліки застосування ІФА

Як будь-які імунохімічні методи аналізу, ІФА може давати хибно позитивні і помилково негативні результати. Наприклад, хибнопозитивні результати при визначенні антитіл до різних інфекцій можуть виникнути за рахунок ревматоїдного фактора, що представляє собою імуноглобулін М проти власних імуноглобулінів G людини; за рахунок антитіл, що утворюються при різних системних захворюваннях, порушеннях обміну або прийомі лікарських препаратів; у новонароджених такі хибнопозитивні реакції можуть виникати за рахунок утворення в організмі дитини М-антитіл до імуноглобуліну G матері.

Крім цього, причиною хибнопозитивних результатів може бути синдром поліклональної активації. При цьому, особливі речовини - суперантигени - неспецифічно стимулюють вироблення В-лімфоцитами антитіл до різних інфекцій. Практично це виражається в неспецифічному наростанні титру антитіл відразу до багатьох збудників. Помилково негативні результати при визначенні антитіл можуть бути обумовлені станами імунодефіциту, а також технічними помилками при постановці реакції.

Таким чином, за рахунок переваг імуноферментного аналізу: зручності в роботі, швидкості, об'єктивності за рахунок автоматизації обліку результатів, можливості дослідження імуноглобулінів різних класів (що важливо для ранньої діагностики захворювань та їх прогнозу) в даний час є одним з основних методів лабораторної діагностики.[15,28,14,34]

2.2. Хемілюмінесцентний метод

Хемілюмінесценція-це процес випромінювання фотонів при переході електронно-збуджених продуктів окисних хімічних реакцій у вихідний енергетичний стан. В таких реакціях виділяється значна кількість енергії і квантовий вихід випромінювання світла досить високий.

2.2.1. Імуноферментний метод з хемілюмінесценцією. Переваги методу та недоліки застосування

Подальший розвиток систем аналізу використовуючих ІФА, у тому числі їх автоматизація, призвели до появи різновиду ІФА, а саме імунохемілюмінесцентному методу.

Імунохемілюмінесцентний метод це сучасний метод лабораторної діагностики імунологічного профілю який поєднує хемілюмінесценцію та реакцію формування специфічного комплексу антиген-антитіло.



Рис 2.3 Architect I 2000 sr

Автоматичний імунохемилюмінесцентний аналізатор закритого типу Architect I 2000 sr фірми Abbott (США):

- продуктивність - до 200 тестів на годину;
- кількість реагентів що знаходиться на борту - 25;
- закрыта система;
- час виконання дослідження 28 хвилин. кожен наступний через 18 секунд;
- **Технологія CHEMIFLEX** та автоматизація процесів, які покладені в основу роботи аналізатора, забезпечують високу чутливість при низьких значеннях аналізу, виключають можливість перехресного забруднення, знижують ризик аналітичної помилки.

Процес складається з чотирьох етапів:

I. Для отримання реакційної суміші змішуються зразок та парамагнітні мікрочастинки вкриті антитілами. Присутні у зразку антитіла зв'язуються з мікрочастинками.

II. Після промивання додається кон'югат мічених акридином антитіл.

III. Після промивання додається претригерний та тригерний розчин.

VI. Результат хемилюмінесцентної реакції вимірюється у відносних світлових одиницях. Присутність чи відсутність антитіл у зразку визначається шляхом порівняння інтенсивності хемилюмінесцентного сигналу під час реакції з пороговою інтенсивністю, яка встановлена під час попереднього калібрування тест-системи.

2.2.2. Імунохімічні тести з визначенням за допомогою електрохемилюмінесценції. Переваги методу та недоліки застосування

Електрохемилюмінесцентний метод це сучасний метод лабораторної діагностики імунологічного профілю формування специфічного комплексу антиген-антитіло. Метод заснований на детекції емісії світла, що виникла під впливом електричного поля.

Мітка - рутенієвий комплекс, надзвичайно стабільна водорозчинна сіль. Рутенієвий комплекс здатний випромінювати світло на поверхні електрода при подачі на нього напруги.

Перевагами методу є:

- Висока стабільність рутенієвої мітки (ферменти не використовуються, що значно підвищує стабільність реакції);
- Швидкість і надійність виникнення світлового сигналу;
- Висока аналітична чутливість;
- В якості твердої фази використовуються найдрібніші (2,8мкм), покриті стрептавидином магнітні частинки. Частинки знаходяться у вигляді суспензії, забезпечуючи велику поверхню для іммобілізації імунних комплексів, що значно прискорює реакцію.



Рис 2.4 Cobas 6000

Автоматичний аналізатор Cobas 6000.

Принцип метода:

1-ша інкубація. Зразок, реагент з вмістом біотинильованих специфічних антигенів мічених рутенієвим комплексом, вступають в реакцію з формуванням “сендвіч” комплексу.

2-га інкубація. Після додавання мікрочастинок, вкритих стрептавидином, утворений комплекс зв'язується з твердою фазою за допомогою взаємодії біотина та стрептоavidину.

Реакційна суміш аспірується в вимірювальну ячейку, мікрочасточки осідають на поверхні електрода в результаті магнітної взаємодії. Потім за допомогою ProCell видаляються незв'язані речовини. Надалі прикладена до електрода напруга викликає хемілюмінесцентну емісію яка вимірюється фотомножувачем.

Результат визначається автоматично програмним забезпеченням шляхом порівняння електрохемілюмінесцентного сигналу проби зі значенням сигналу дискримінаційного рівня, попередньо виміряного за допомогою калібрування.

2.3 Метод полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР). Принцип методу. Переваги та недоліки застосування.

Метод ПЛР був розроблений у 1983 році Керрі Мюллісом, за що вчений був удостоєний Нобелівської премії. Принцип роботи методу полягає в багаторазовому ампліфікації (копіюванні), певних ділянок ДНК у процесі повторюваних температурних циклів.

Основні етапи ПЛР:

I. Виділення ДНК

II. Ампліфікація ДНК

– процес багаторазового копіювання специфічної ділянки ДНК, обмеженого праймерами. Для проведення ампліфікації необхідна наявність в реакційної суміші ряду компонентів та прилад, який в короткі терміни з точністю може досягати і підтримувати певну температуру.

Склад реакційної суміші:

1. ДНК-матриця, що містить ту ділянку ДНК, яку потрібно ампліфікувати.
2. Праймери - короткі синтетичні олігонуклеотиди, комплементарні протилежним кінцям різних ланцюгів необхідного фрагмента ДНК.
3. Термостабільная ДНК-полімераза – фермент, що каталізує реакцію полімеризації ДНК.

4. Дезоксирибонуклеозидтрифосфати (dATP, dGTP, dCTP, dTTP).
5. Буферний розчин, що забезпечує необхідні умови реакції.

Якщо в реакційній суміші присутня шукана ДНК, то відбувається ампліфікація специфічної ділянки ДНК, яка складається з:

1. Денатурації.
2. Отжига.
3. Елонгації.
4. Процес ампліфікації багаторазово повторюється (цикли).

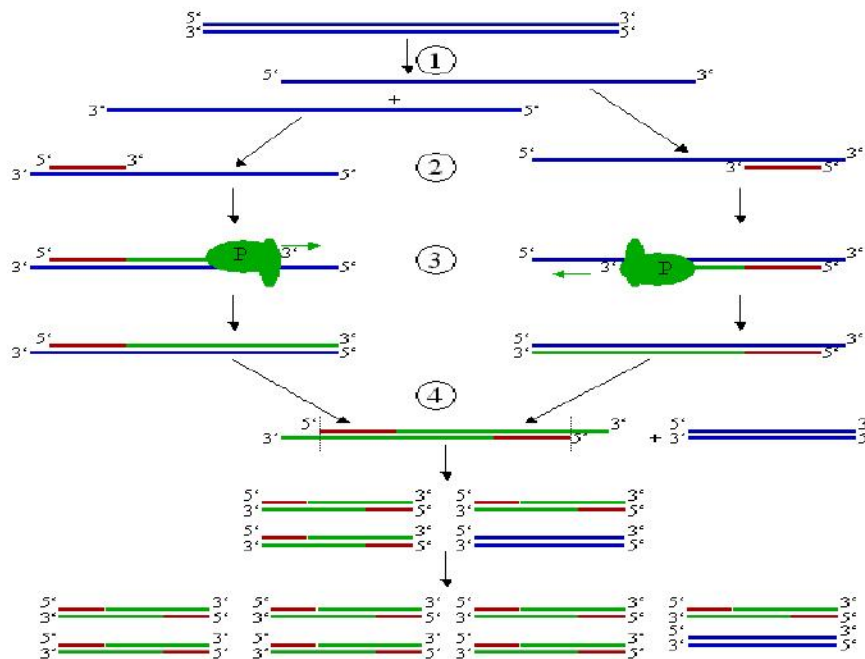


Рис 2.5 Процес ампліфікації

В процесі ампліфікації відбувається багаторазове збільшення кількості специфічних фрагментів ДНК. При цьому відбувається копіювання тільки тієї ділянки, яка задовольняє заданим умовам, і тільки в тому випадку, якщо він присутній в досліджуваному зразку.

III Детекція: перевага віддається детекції в реальному часі на кожному циклі ампліфікації [27].

Компанія Roche Diagnostics є лідером в області медичної діагностики та біологічних досліджень. В 1991 році компанія отримала права на метод ПЛР та почала активно приймати участь в розробці та удосконаленні технології. В той же рік був розроблений метод ПЛР зі зворотною

транскрипцією. Для цього використовувався фермент, який витримував високі температури та міг транскрибувати ланцюг ДНК з РНК, спрощуючи тим самим діагностику на РНК-віруси (ВІЛ, гепатит С та інші).

В 2003 році компанія Roche Diagnostics випустила аналізатор cobas TaqMan, а також тести які дозволяли проводити ампліфікацію і детекцію одночасно. Ця технологія набула назву ПЛР з детекцією в реальному часі. Використовуючи флуоресцентні зонди, які зв'язуються з цільовою ділянкою копії ДНК, отриманими під час ампліфікації, можливо було відстежити присутність вірусного агента в реальному часі. Оскільки ділянки нуклеїнових кислот накопичуються при кожному циклі ПЛР, світловий сигнал від флуоресцентних також змінюється, що дозволяє кількісно виявити вірусне навантаження. За рахунок одночасної детекції і ампліфікації, час який витрачався на отримання результату суттєво скоротився. Також за рахунок автоматизації процесів зменшилася взаємодія людини з зразками та ризик контамінації [32,38].

Лабораторний комплексом ПЛР Cobas201 складається з трьох приладів (рис. 2.6.2.7, 2.8).



Рис 2.6 Прилад HAMILTON

Дозатор HAMILTON- призначений для виконання автоматичного пулювання зразків та внесення контролів.



Рис 2.7 Прилад AmpliPrep

Рис 2.8 Прилад TagMan

AmpliPrep здійснює автоматичне виділення нуклеїнових кислот на магнітних частинках та підготування реакційної суміші.

Виділення та очистка ДНК і РНК відбувається наступним чином. Для лізису клітин і розщеплення білку до зразка до зразка додається лізуючий буфер і протеїназа К. Далі додаються часточки MGP, магнітна серцевина яких вкрита силікагелем. у хаотропних умовах, які утворюють солі високої концентрації, нуклеїнові кислоти адсорбуються на кремнієвій поверхні магнітних частинок. Полісахариди і білки не адсорбуються на часточках і видаляються під час послідовних етапів відмивки. Далі очищені нуклеїнові кислоти елюються з частинок під час нагрівання в слабосольовому буфері [1].

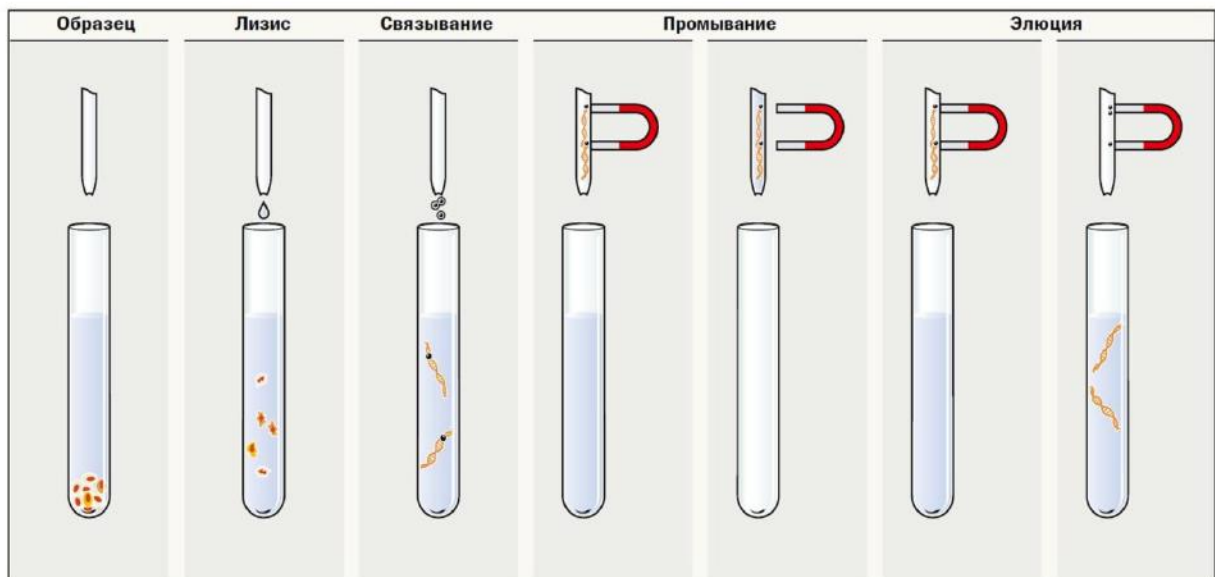


Рис 2.9 Автоматичне виділення нуклеїнових кислот в AmpliPrep

TagMan забезпечує автоматизовану ампліфікацію нуклеїнових кислот і детекцію продуктів ПЛР в реальному часі.

Потім здійснюється автоматизований аналіз результатів ПЛР за допомогою комп'ютерної програми PDM.

Переваги методу ПЛР

- висока чутливість;
- висока специфічність;
- простота виконання;
- можливість роботи з практично будь яким біологічним матеріалом;
- скорочення серонегативного вікна.

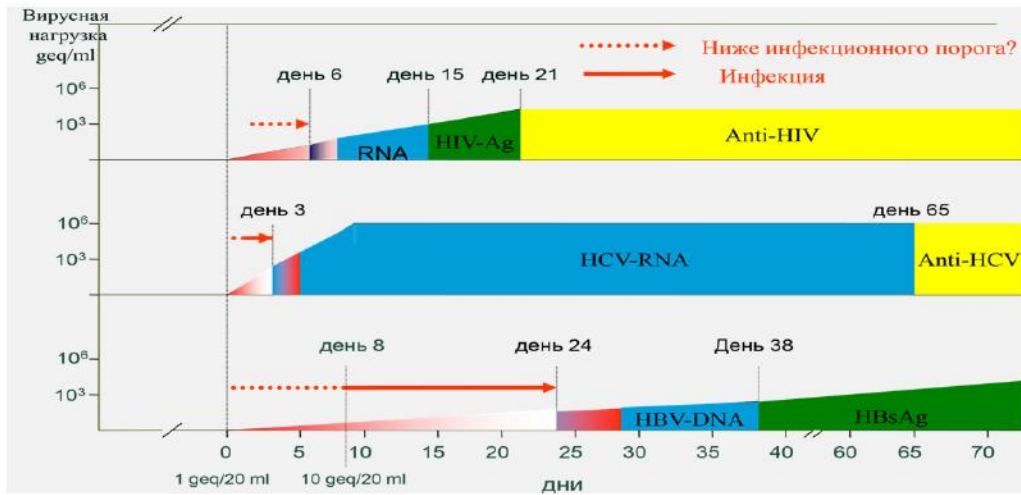


Рис 2.10 Схema виявлення маркерів гемотрансмісивних інфекцій

Недоліки методу – досить дорога апаратура та розхідні матеріали.

РОЗДІЛ 3

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ДОНОРСЬКОЇ КРОВІ ТОВ «СОЦСК»

3.1 Загальна характеристика клініко-діагностичної лабораторії ТОВ «СОЦСК»

ТОВ «Сумський обласний центр служби крові» є спеціалізованим закладом охорони здоров'я вищої акредитаційної категорії, основним завданням якого є взяття, тестування, переробка і зберігання донорської крові та її компонентів та реалізація їх, забезпечення планування, облік донорських кадрів, здійснення контролю за якістю надання трансфузіологічної допомоги лікувально-профілактичними закладами області, надання планово-консультативної та організаційно-методичної допомоги лікувально-профілактичним закладам області, проведення аналізу виробничої діяльності, надання трансфузіологічної допомоги хворим, проведення аналізу посттрансфузійних ускладнень, розробка заходів по їх профілактиці, контроль якості ізосерологічних досліджень в лабораторіях лікувально-профілактичних закладів області. В 2010 та 2015 роках була проведена реконструкція центру. Реконструкція центру проводилась на основі досвіду провідних Європейських компаній, що здійснюють заготівлю крові і плазми, у відділі заготівлі крові та її компонентів встановлене новітнє обладнання, що відповідає основним світовим стандартам в галузі служби крові, а саме системи «T-RAC» для заготівлі крові, апарати автоматичного плазмаферезу «Haemonetics PCS-2», які дозволяють заготовляти понад 30 000 літрів плазми щороку, апарат для приготування терапевтично ефективних доз тромбоцитів «Trima Accel».

Серед елементів комплексної системи забезпечення якості і безпеки плазми слід відзначити найбільш значимі, такі як правильний відбір донорів, лейкофільтрація всієї заготовленої крові, багаторівневий лабораторний контроль, в тому числі методом ПЛР, процедура забору плазми

автоматичним способом в “замкнутій системі”, карантинне зберігання плазми. Важливим моментом є оснащення лабораторій серологічного скринінга і ПЛР-діагностики сучасними автоматизованими лабораторними комплексами. Зокрема, використовуються гематологічні аналізатори «Sysmex XR300», ІХЛА-аналізатор «Architect s2000ir», автоматичні аналізатори «Cobas 6000», автоматизована система обладнання для обстеження методом ПЛР «Cobas s201» та інші. Всі операції, починаючи зі зчитування коду і відкриття пробірки, до складання протоколу дослідження та інтеграції його в комп’ютерну систему, ведуться в автоматичному режимі. Заготівля плазми проводиться виключно методом автоматичного плазмаферезу. Для заготівлі плазми використовується тільки одноразовий витратний матеріал. Їх розкриття відбувається в присутності донорів, що позитивно сприймається ними та забезпечує їхню безпеку. Процедура плазмаферезу займає близько 45 хвилин, проходить комфортно та безболісно. Вся заготовлена плазма заморожується в шоківому швидкозаморожувачі «Friger DZKP 50/21» при температурі -50°C .

Процедура безпечного відбору та належного обстеження донорів втілена та застосовується ТОВ «Сумський обласний центр служби крові» перед кожною донацією у відповідності до наказу МОЗ України № 385 від 01.08.2005 року «Про інфекційну безпеку донорської крові та її компонентів» та рекомендацій Європейського Директорату з якості лікарських засобів і охорони здоров’я «Керівництво з приготування, використання і забезпечення якості компонентів крові» (Рекомендація № R(95)15, 17-видання). Критерії відбору донорів відповідають вимогам вказаних нормативних документів і монографій Державної Фармакопеї України та Європейської Фармакопеї.

У ТОВ «Сумський обласний центр служби крові» діє система, яка дозволяє відстежувати кожну донацію від процедури заготівлі донорської крові або її компонентів до отримання готового продукту та його видачі з повною відповідністю до Директив 2002/98/ЄС, 2005/61/ЄС, 2005/62/ЄС. Система відслідковування включає в себе контроль над процедурою заготівлі

донорської крові та її компонентів, ідентифікацією та маркуванням зразків донорської крові, управлінням даними та документацією.

Клініко-діагностична лабораторія і є структурним підрозділом ТОВ «СОЦСК», який проводить висококваліфіковане виконання клініко-лабораторних досліджень з урахуванням вимог лікувально-діагностичного процесу та нормативної документації, яка регламентує роботу медичної лабораторної служби.

Атестована в НААУ відповідно вимогам стандарту ДСТУ ISO 15189:2015.

3.2 Характеристика донорів ТОВ «СОЦСК»

Об'єктом дослідження є зразки донорської крові ТОВ «СОЦСК» обстеженні в період 2016р.- 2020р. які було взято під час донації або при обстеженні донора.

Донорів було допущено до донації після попередньої співбесіди лікаря терапевта та відсутності у нього протипоказань до донорства.

Також дослідження проводились донорам Сумського району, які надійшли до ТОВ «СОЦСК» з відділів трансфузіології Центральних Районних Лікарень Шостки, Охтирки, Глухова, Кролевця, Лебедина, Недригайлів, Путивлю, Ромни.

Розподіл донорів на первинних та кадрових в ТОВ «СОЦСК» наведено в таблиці 3.1

Доля заготівлі цільної крові від загальної кількості донацій з 2016-2020 роках склала 9 %, заготівля плазми апаратним методом 91%.

Таблиця 3.1

Кількість донацій ТОВ «СОЦСК» 2016-2020р та їх процентне співвідношення

Донації	2016	2017	2018	2019	2020	всього
---------	------	------	------	------	------	--------

кров	6385	5045	3796	3603	5817	24646
плазма	33448	45851	58851	54024	57603	249777
всього	39833	50896	62647	57627	63420	274423

Рис. 2.11 Донації 2016

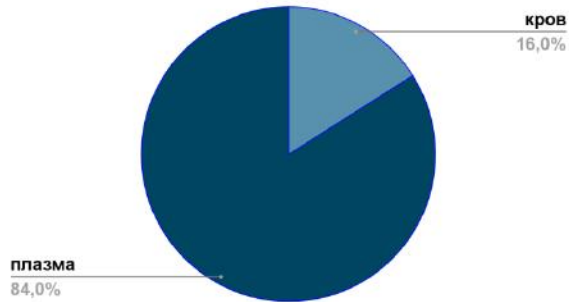


Рис. 2.12 Донації 2017 р.

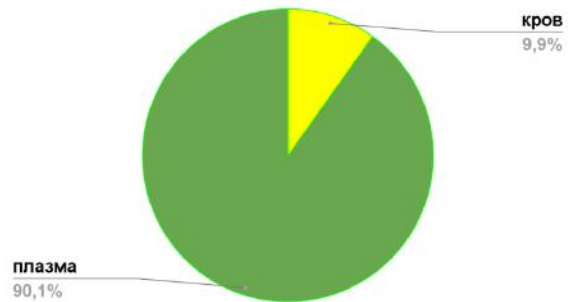


Рис. 2.13 Донації 2018 р.

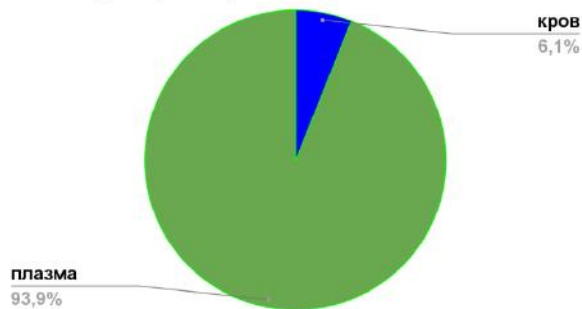


Рис. 2.14 Донації 2019 р.

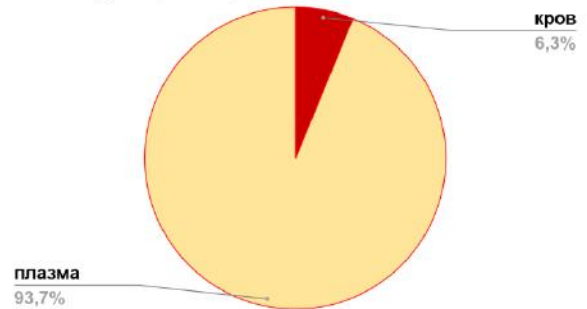


Рис. 2.15 Донації 2020 р.

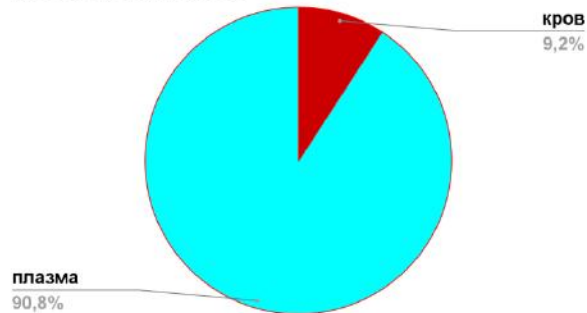


Рис. 2.11-2.15. Донації 2016-2020 рр.

Таблиця 3.2

Таблиця кількості донорських відділень обстежених на ТОВ «СОЦСК» 2017-2020 рр.

Обласні відділення	2017	2018	2019	2020	всього
--------------------	------	------	------	------	--------

Шосткінська ЦРЛ	788	689	604	0	2081
Охтирська ЦРЛ	308	261	277	201	1047
Глухівська ЦРЛ	150	350	280	75	855
Конотопська ЦРЛ	746	746	876	801	3169
Кролевецька ЦРЛ	98	133	159	59	449
Лебединська ЦРЛ	144	134	78	31	387
Недригайлівська ЦРЛ	180	139	138	14	471
Путивльська ЦРЛ	56	53	41	0	150
Роменська ЦРЛ	585	426	364	322	1697

Зразки крові для проведення скринінгу було взято у донорів під час донації. Кров набирали в 3 пробірки, промарковані штрихкодом типу вакутайнер: жовта кришка (активатор згортання+ роздільний гель) біохімічні та серологічні дослідження, біла кришка (К2ЕДТА) для молекулярно-генетичних досліджень, бузковий (К2ЕДТА) ізосерологічні дослідження. Пробірки центрифугуються, реєструються і зберігаються згідно вимог.

Проводиться реєстрація зразків у відповідні журнали:

1. Пробірки для біохімічних та серологічних досліджень - «Журнал реєстрації зразків сироваток крові для проведення скринінгових досліджень на наявність серологічних маркерів гемотрансмісивних інфекцій та результатів досліджень методом ІХЛА/ЕХЛА».

2. Пробірки для ізосерологічних досліджень - «Журнал реєстрації донорів по групах крові системи АВО та резусу».

3. Пробірки для молекулярно-генетичних досліджень – «Журнал реєстрації зразків плазми крові для проведення досліджень на наявність нуклеїнових кислот збудників гемотрансмісивних інфекцій та результатів досліджень методом ПЛР».

Після відповідної пробо підготовки зразки було обстежено у 2016 році методом ІФА.

2017 році застосовувалися ІФА, ІХЛА, ЕХЛА, з 2018 -2020 роки ІХЛА, ЕХЛА, ПЛР - методами. ІХЛА, ЕХЛА,ПЛР проводяться на автоматичних аналізаторах. Результати загружаються в електронну систему ПК «InfoDonor» автоматично.

3.3. Скринінгові методи дослідження ТОВ “СОЦСК”

Серологічні методи

Обстеження зразків крові на серологічні маркери в КДЛ ТОВ”СОЦСК” в 2016 р проводили методом твердофазного імуноферментного аналізу (ІФА), ручним методом.

Для визначення антитіл використовувались тест-системи: Vitrotest Anti-HCV, та DIA Anti-HCV, Vitrotest HBsAg, DIA-IgG-IgM-Trep, Geenscrin Ultra HIV

- промивач 8 канальний;
- спектрофотометр;
- термостат.
- Отримані позитивні зразки повторно тестувались в двох повторах результати скринінгу наведено у таблиці:

Таблиця 3.3

Позитивні результати у 2016 році

вид інфекції	2016рік
--------------	---------

ВІЛ	досліджено	3123
	I позитивні	17
	II позитивні	1
	підтверджені	1
геп В	досліджено	2967
	I позитивні	12
	II позитивні	8
геп С	досліджено	2891
	I позитивні	12
	II позитивні	12
Сифіліс	досліджено	3654
	I позитивні	7
	II позитивні	6

В 2017 році впроваджено нові методи обстеження:

- серологічний метод ІХЛА на автоматичному аналізаторі Architect i2000SR (Abbot США) тестування проводились на тест-системах: Architect HIV Ag/Ab Combo Reagent KIT, Architect Anti HCV Reagent KIT, Architect Anti HBsAg Qualitative II Reagent KIT, Architect Syphilis Tr Reagent KIT.

- серологічний метод ЕХЛА на автоматичному аналізаторі Cobas 6000 тестування проводились на тест-системах Elecsys HIV combi PT, Elecsys HBsAgII, Elecsys Anti-HCVII, Elecsys Syphilis.

Для визначення ефективності дослідження проводилося трьома зазначеними методами. Отримані позитивні зразки повторно тестувались в двох повторях результати скринінгу наведено у таблиці:

Таблиця 3.4

Порівняння методів у 2017 році

вид інфекції		2017рік			
		ІФА	ІХЛА	ЕХЛА	всього
ВІЛ	досліджено	14278	5301	19177	38756
	I позитивні	58	28	34	120
	II позитивні	22	22	21	65
геп В	досліджено	14038	5336	18723	38097
	I позитивні	223	10	33	266
	II позитивні	47	9	26	82
геп С	досліджено	13876	5384	18669	37929
	I позитивні	102	30	78	210
	II позитивні	80	29	75	184
Сифіліс	досліджено	13168	5436	16052	34636
	I позитивні	68	16	21	105
	II позитивні	49	15	19	83

Таблиця 3.5

**Підтверджені результати досліджень на ВІЛ, геп В, геп. С
різними методами**

Вид інфекції	Метод	% позитивних досліджень	% підтверджених позитивних	% хибнопозитивних
ВІЛ	ІФА	0.4	0.2	0.2
	ІХЛА	0.5	0.4	0.1
	ЕХЛА	0.2	0.1	0.1
	всього	1.1	0.7	0.4
геп В	ІФА	1.6	0.3	1.3
	ІХЛА	0.2	0.16	0.04
	ЕХЛА	0.17	0.13	0.04
	всього	1.97	0.59	1.38
геп С	ІФА	0.77	0.57	0.2
	ІХЛА	0.55	0.53	0.02
	ЕХЛА	0.41	0.4	0.01
	всього	1.73	1.5	0.23
сифіліс	ІФА	0.51	0.37	0.14
	ІХЛА	0.29	0.27	0.02
	ЕХЛА	0.13	0.11	0.02
	всього	0.93	0.75	0.18

Проведений аналіз доводить що методи обстеження в ІХЛА, ЕХЛА мають більшу специфічність, кількість хибнопозитивних результатів дорівнює 0.01-0.02% , ІФА- 0.2-0,14%.

Виявлення гемотрансмісивних інфекцій у 2017 році

2017	всього									разом	
	всього проб	із них позитивні									
		HIV		HBV		HCV		Syph		абс	%
		абс	%	абс	%	абс	%	абс	%		
СОЦСК	52285	39	0,074	28	0,053	120	0,229	63	0,120	250	0,48
Районні відділення трансфузіології											
Шостка	788	1	0,126	1	0,126	0	0	0	0	2	0,25
Охтирка	308	2	0,649	0	0	1	0,32	2	0,65	5	1,62
Глухів	150	1	0,666	4	2,666	1	0,67	0	0	6	4,00
Конотоп	246	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Кролевець	98	6	6,122	2	2,04	1	1,02	1	1,02	10	10,2
Лебедин	144	0	0	1	0,69	1	0,69	0	0	2	1,39
Недригайлів	180	0	0	1	0,55	2	1,11	1	0,56	4	2,22
Путівль	56	0	0	0	0	2	3,57	0	0	2	3,57
Ромни	585	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

З 2018 року обстеження донорів проводилось по другому алгоритму (НАКАЗ МОЗ України №134 19.02.2013 Про затвердження Порядку скринінгу донорської крові та її компонентів на гемотрансмісивні інфекції) зразки обстежувались серологічним методом ІХЛА або ЕХЛА всі негативні зразки додатково обстежувались генномалекулярним методом ПЛР Cobas201.

Виявлення гемотрансмісивних інфекцій у 2018 році

2018	всього								
	всього проб	із них позитивні							
		HIV				HBV			
		108/1	108/2	разом		108/1	108/2	разом	%
СОЦСК	61859	39	18	57	0,09	16	10	26	0,04
Районні відділення трансфузіології									
Шостка	689	0	0	0	0	0	0	0	0
Охтирка	261	0	0	0	0	0	1	1	0,38
Глухів	350	0	0	0	0	0	2	2	0,57
Конотоп	746	0	0	0	0	0	0	0	0
Кролевець	133	0	3	3	2,26	2	2	4	3,01
Лебедин	134	1	0	1	0,75	1	0	1	0,75
Недригайлів	139	0	0	0	0	3	0	3	2,16
Путівль	53	1	0	1	1,89	0	0	0	0
Ромни	426	0	0	0	0	0	0	0	0
всього по районах	2931	2	3	5	0,17	6	5	11	0,38

2018	всього								разом	
	із них позитивні									
	HCV				Syph					
	08/1	08/2	разом		08/1	08/2	разом	%	абс	
СОЦСК	117	18	135	0,22	49	9	58	0,09	276	0,45
Районні відділення трансфузіології										

Шостка			0				0	0	0	
Охтирка			4	1,53			0	0	5	1,92
Глухів			1	0,29			1	0,29	4	1,14
Конотоп			0				0	0	0	
Кролевець			1	0,75			0	0	8	6,02
Лебедин			1	0,75			0	0	3	2,24
Недригайлів			1	0,72			0	0	4	2,88
Путівль			0				0	0	1	1,89
Ромни			0				0	0	0	
всього по районах			8	0,27			1	0,03	25	0,85

2018 СОЦСК	донацій	позитивних	
		абс. брак	%
108/1	5277	221	4,19
108/2	56582	55	0,10

Таблиця 3.8

Обстежено донорів методом ПЛР 2018 році

2018 СОЦСК	донацій	Позитивні в ПЛР								
		HIV			HBV			HCV		
		108/1	108/2	% вияв	108/1	108/2	% вияв	108/1	108/2	% вияв
61583	0	1	0,0016	0	1	0,0016	3	4	0,011	

Таблиця 3.9

Виявлення гемотрансмісивних інфекцій у 2019 році

2019	всього								
	всього о проб	із них позитивні							
		HIV				HBV			
		108/ 1	108/2	разом	%	108/ 1	108/ 2	разом	%
СОЦСК	60067	15	20	35	0.06	13	5	18	0.03
Районні відділення трансфузіології									
Шостка	604	0	0	0	0	0	0	0	0
Охтирка	277	1	0	1	0.4	0	1	0	0.4
Глухів	280	0	0	0	0	0	0	0	0
Конотоп	876	1	0	1	0.1	0	0	0	0
Кролевець	159	0	0	0	0	2	1	3	1.9
Лебедин	78	0	0	0	0	0	0	0	0
Недригайлів	138	0	0	0	0	0	0	0	0
Путівль	41	0	0	0	0	0	0	0	0
Ромни	364	1	0	1	0.03	0	0	0	0
всього по районах	2817	3	0	3	0.11	3	1	4	0.14

2019	всього		разом
	із них позитивні		
	HCV	Syph	

	108/1	108/2	разом	%	108/1	108/2	разом	%	абс	%
СОЦСК	71	13	84	0.14	18	8	26	0.04	163	0,27
Районні відділення трансфузіодогії										
Шостка	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Охтирка	0	0	0	0	1	0	1	0.4	3	1,1
Глухів	3	2	5	1.8	0	0	0	0	5	1,8
Конотоп	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0.1
Кролевець	0	0	0	0	0	0	0	0	3	1.9
Лебедин	0	0	0	0	1	0	1	1.3	1	1.3
Недригайлів	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Путівль	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Ромни	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0.03
всього по районах	3	2	5	0.18	2	0	2	0.07	14	0.50

2019 СОЦСК	донацій	ПОЗИТИВНИХ	
		абс. брак	%
108/1	3740	117	3.13
108/2	56327	46	0,08

Таблиця 3.10

Обстежено методом ПЛР 2019 році

2019 СОЦСК	донацій	Позитивні в ПЛР								
		HIV			HBV			HCV		
		108/1	108/2	% вияв	108/1	108/2	% вияв	108/1	108/2	% вияв
		59904	0	1	0,0016	0	4	0,006	2	9

Таблиця 3.11

Виявлення гемотрансмісивних інфекцій у 2020 році

2020	всього								
	всього проб	із них позитивні							
		HIV				HBV			
		108/1	108/2	разом	%	108/1	108/2	разом	%
СОЦСК	63675	14	11	25	0.04	14	10	24	0.04
Районні відділення трансфузіології									
Шостка	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Охтирка	201	0	0	0	0	0	0	0	0
Глухів	75	0	0	0	0	0	0	0	0
Конотоп	801	1	0	1	0.1	0	0	0	0
Кролевець	59	0	0	0	0	4	1	5	8.5
Лебедин	31	0	0	0	0	0	2	2	6.5
Недригайлів	34	0	0	0	0	0	0	0	0
Путівль	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Ромни	322	0	0	0	0	0	0	0	0
всього по районах	1523	1	0	1	0.07	4	3	7	0.5

2020	всього								разом
	із них позитивні								

	HCV				Syph					
	108/1	108/2	разом	%	108/1	108/2	разом	%	абс	%
СОЦСК	83	19	102	0.16	8	6	14	0.02	165	0.26
Районні відділення трансфузіології										
Шостка	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Охтирка	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Глухів	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Конотоп	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0.1
Кролевець	0	0	0	0	0	0	0	0	5	8.5
Лебедин	0	1	1	3.2	0	0	0	0	3	9.4
Недригайлів	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Путівль	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Ромни	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
всього по районах	0	1	1	0.07	0	0	0	0	9	0.64

2020 СОЦСК	донацій	ПОЗИТИВНИХ	
		абс. брак	%
108/1	4730	111	2.3
108/2	58945	40	0,1

Таблиця 3.12

Обстежено донорів методом ПЛР 2020 році

2020 СОЦСК	донацій	Позитивні в ПЛР								
		HIV			HBV			HCV		
		108/1	108/2	% вияв	108/1	108/2	% вияв	108/1	108/2	% вияв

	63524	0	2	0,003	1	1	0,003	1	3	0,006
--	-------	---	---	-------	---	---	-------	---	---	-------

Проведення в 2017 році порівняння методів доводить що обстеження в ІХЛА, ЕХЛА мають більшу специфічність, кількість хибнопозитивних результатів дорівнює 0.01-0.02%, ІФА- 0.2-0,14%.

Частота виявлення маркерів гемотрансмісивних інфекцій за період спостереження 2016-2020рр. За цей період було обстежено серологічним методом:

Таблиця 3.13

2016р	2017р	2018р	2019р	2020р
40656	52258	61859	61583	63675

Кількість донацій суттєво збільшилась за рахунок вдалої реклами донорства та залучення молоді до донорського руху.

Таблиця 3.14

Відсоток абсолютного браку:

2016		2017		2018		2019		2020	
всього	абс.брак	всього	абс.брак	всього	абс.брак	всього	абс.брак	всього	абс.брак
40656	0,14	52258	0,48	61859	0,45	61583	0,27	63675	0,26

Таблиця 3.15

Відсоток кожної інфекції в складі абсолютного браку:

	2016 n=40656	2017n=52258	2018n=61859	2019n=61583	2020n=63675
	абс.брак	абс.брак	абс.брак	абс.брак	абс.брак
НСV	0,08	0.229	0.22	0.14	0.16

HBV	0,02	0.053	0.04	0.03	0.04
HIV	0,002	0.074	0.09	0.06	0.04
Syphilis	0,03	0.120	0.09	0.04	0.02

Відсоток абсолютного браку знижувався на протязі всього часу спостереження за рахунок залучення до донорів постійних донорів та якісним відбором донорських кадрів на переддонаційному етапі.

Найбільший відсоток в складі абсолютного браку за всі роки займає гепатит С 2016р. - 0,08%, 2017р. - 0,229%, 2018р. - 0,22%, 2019р. - 0,14%, 2020р. - 0,16%, що підтверджує дані про розповсюдженість інфекції серед населення України і Сумської області.

Кількість браку за 2017 рік складає найбільший відсоток з усіх гемотрансмісивних інфекцій, що можна пов'язати з впровадженням нових методів обстеження донорів (ЕХЛА, ПЛР), що мають більшу специфічність та чутливість.

Таблиця 3.16

Відсоток позитивних результатів в ПЛР

	донацій	Позитивні в ПЛР								
		HIV			HBV			HCV		
		108/1	108/2	% вияв	108/1	108/2	% вияв	108/1	108/2	% вияв
2018 СОЦСК	61583	0	1	0,0016	0	1	0,0016	3	4	0,011
2019 СОЦСК	59904	0	1	0,0016	0	4	0,006	2	9	0,018
2020 СОЦСК	63524	0	2	0,003	1	1	0,003	1	3	0,006

З 2018 року обстеження донорів проводилось по другому алгоритму (НАКАЗ МОЗ України №134 19.02.2013 Про затвердження Порядку скринінгу донорської крові та її компонентів на гемотрансмісивні інфекції) зразки обстежувались серологічним методом ІХЛА або ЕХЛА всі негативні зразки додатково обстежувались генномалекулярним методом ПЛР Cobas201 мультіплексний тест TaqScreen MPX v2.0 , за допомогою якого було обстежено за 2018-2020рр 185011 серонегативних донацій. Введення ПЛР дослідження донорської крові дало змогу виявити , та запобігти застосування інфікованих компонентів крові: HIV - 4 випадки на 185011 донацій, HCV - 22 випадки на 185011 донацій, HBV - 7 випадків на 185011 донацій. Аналіз отриманих результатів обстеження донорів методом ПЛР дає змогу зробити висновок, що серед донорів які при серологічному тестуванні дають негативний результат гемотрансмісивних інфекцій мають позитивні результати та можуть бути носіями низьких концентрацій вірусного геному, виявити які можливо при тестуванні зразків методом ПЛР.

Введення ПЛР тестування дозволяє знизити ризик інфікування реципієнтів гемотрансмісивними інфекціями.

ВИСНОВКИ

1. Переливання компонентів крові в Україні пов'язане з безліччю ризиків. Найбільш небезпечними збудниками гемотрансмісивних інфекцій є віруси імунодефіциту людини та гепатити В,С. Україна сьогодні посідає одне з перших місць серед країн європейського регіону за кількістю ВІЛ-позитивних осіб. Кожен сотий громадянин України у віці від 15 до 49 років інфікований ВІЛ, що є одним із найвищих показників серед країн регіону. За оцінками національних експертів в Україні 5% (2 107 660) населення інфіковані гепатитом С. Щодо гепатиту В, то відповідно до оцінок експертів, у нашій державі інфіковано 1,5% (632 298) осіб. Інфекційна безпека та контроль якості крові на сьогодні визнано стратегічними в розвитку нашої країни, невідкладними в вирішенні, тому що торкаються кожного громадянина України.
2. Для забезпечення інфекційної безпеки компонентів донорської крові застосовуються лабораторні методи:
 - Непрямі імунохімічні методи діагностики:
 - імуноферментний (ІФА) -переваги імуноферментного аналізу: зручність в роботі, швидкість, можливість автоматизації процесів, недоліки - велика кількість хибних результатів, як правило відкрита система;

- імунохемілюмінесцентний (ІХЛА) - переваги - повна автоматизація процесів, закрита система, висока продуктивність, висока чутливість при низьких значеннях аналізу, виключають можливість перехресного забруднення, зниження ризику аналітичної помилки;
 - електрохемілюмінесцентний ЕХЛА - переваги - висока стабільність рутенієвої мітки (ферменти не використовуються, що значно підвищує стабільність реакції, швидкість і надійність виникнення світлового сигналу, висока аналітична чутливість, повна автоматизація процесів.
 - Прямий метод діагностики:
 - молекулярно-генетичний (ПЛР) - переваги - можлива автоматизація процесів, висока чутливість, висока специфічність, простота виконання, можливість роботи з практично будь-яким біологічним матеріалом, скорочення серонегативного вікна, недоліки - досить дорога апаратура та розхідні матеріали
3. Проведенні спостереження на базі клініко-діагностичної лабораторії ТОВ "СОЦСК" у період 2016-2020рр. дало змогу зробити висновки:
- обстеження в ІХЛА, ЕХЛА мають більшу специфічність, кількість хибнопозитивних результатів дорівнює 0.01-0.02%, ІФА- 0.2-0,14%
 - найбільший відсоток в складі абсолютного браку за всі роки займає гепатит С 2016р. - 0,08%, 2017р. - 0,229%, 2018р. - 0.22%, 2019р. - 0,14%, 2020р. - 0,16%, що підтверджує дані про розповсюдженість інфекції серед населення України і Сумської області
 - введення ПЛР дослідження донорської крові дало змогу виявити, та запобігти застосування інфікованих компонентів крові: HIV - 4 випадки на 185011 донацій, HCV - 22 випадки на 185011 донацій, HBV - 7 випадків на 185011 донацій. ПЛР тестування дозволяє знизити ризик інфікування реципієнтів гемотрансмісивними інфекціями.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Автоматизированное выделение нуклеиновых кислот на магнитных частицах. Режим доступа: <https://diagnostics.roche.com/ru/ru/article-listing/automated-nucleic-acid-extraction.html>
2. Балаян М.С., Михайлов М.И. Энциклопедический словарь - вирусные гепатиты: Русско-украинское издание Под ред. Б.А. Герасуна. - Львов: ЛДМУ, 2000. - 584 с.
3. Блюм Х.Е. Гепатит С - современное состояние проблемы // РЖГГК. - 2005. - № 1. - С.20-25.
4. Бобкова М.Р. Возможные механизмы взаимного влияния инфекций, вызываемых ВИЧ и вирусом гепатита С // Журн. микробиол. - 2002. - № 5. - С. 104-115.
5. Вахненко Л.М. Сучасні підходи в організації служби крові в Україні. Український хіміотерапевтичний журнал.-2012.-№3.-с.12-14.
6. Видиборець С.В. Вірусологічна небезпека гематрансфузійної терапії. Український журнал гематологія та трансфузіологія.-2002.-№1.-с.15-21
7. Вірусні гепатити. Режим доступа: <https://phc.org.ua/kontrol-zakhvoryuvan/virusni-gepatiti>
8. Гастропортал. Режим доступа: www.gastroportal.ru
9. Геращенко Г.В. Атестаційний звіт вірусологія І категорія. 2018
10. Дзюблик І.В. Посібник з хіміотерапії вірусних інфекцій за редукцією .- Київ., 2004.-176с.
11. Дзюблик І.В., Порохницький В.Г. Перентеральні вірусні гепатити.-К. Вища школа,2001
12. Диагностические системы вектор бест. Режим доступа: http://www.vector-best.ru/nvb/st36_2.htm

13. Дудченко М.О., Коляденко В.Г., Барияк І.Р., Скибан Г.В., Вітенко І.С., Федоренко О.Є., Васильєва К.В., Артеменко А.Ф., Левченко Л.Ю., Макарова О.О., Стасюк Г.М., Азамлех В.А., Вітенко Б.В. Шкірні та венеричні хвороби. -Вінниця: Нова Книга, 2008.-240с.
14. Егоров А.М., Осипов А.П. и др. Теория и практика иммуноферментного анализа.- М.высш.шк 1991.-288с.
15. Імуноферментні дослідження . Режим доступу: <https://mldc.vn.ua/services>
16. Камышников В.С. Справочник по клинико-биохимическим исследованиям и лабораторной диагностике. -М. МЕДпресс -информ. 2009.-871с.
17. Катеренчук І.П. Клінічна оцінка, діагностичне й прогностичне значення результатів лабораторних досліджень.- К.Медкнига. 2018.- 176с.
18. Катеренчук І.П. Клінічне тлумачення й діагностичне значення лабораторних показників у загальнолікарській практиці. -К.Медкнига. 2020.-228с.
19. Кишкун А.А. Назначение и интерпретация результатов лабораторных исследований.-М.ГЭОТАР-Медиа.2016.-448с.
20. Купновицької І.Г., Ерстенюк А.М. за редакцією Лабораторна діагностика.- Вінниця:Нова книга.2019.- 314с.
21. Лабораторна діагностика вірусних інфекцій:Метод. Рекомендації.- К.2004
22. Лабораторна діагностика гепатиту С. Режим доступу: http://www.epidemiolog.ru/diagnost/detail.php?ELEMENT_ID=4422
23. Лисукова Т.Е., Титов В.В., Малеев В.В. и др. Клинико-лабораторная характеристика хронического гепатита С у взрослых // Эпидемиология и инфекционные болезни. -2004 - № 5. - С. 30-35.

24. Лопаткина Т.Н. Хронический гепатит С: внепеченочные проявления, особенности клинического течения, диагностика // Вирусные гепатиты: Достижения и перспективы. -2000. - № 2 (9). - С. 5-6.
25. Лучшев В.И., Санин Б.И., Жаров С.Н. Вирусный гепатит С - глобальная проблема нашего времени // Рос. мед. журн.- 2004.- № 3. - С. 40-45.
26. Мельник А.А. Клинические лабораторные тесты для практической медицины, их интерпретация(справочник). - К.Книг плюс.2017.-308с.
27. Метод полімеразної ланцюгової реакції. Режим доступу: <https://omcrl.zp.ua/index.php/2019/03/25/plr/>
28. НАКАЗ МОЗ України 16.06.2005 №301 Про затвердження Методичних рекомендацій “Системи діагностики ВІЛ-інфекції у немовлят”
29. НАКАЗ МОЗ України №134 19.02.2013 Про затвердження Порядку скринінгу донорської крові та її компонентів на гемотрансмісивні інфекції
30. НАКАЗ МОЗ України №997 від 22.11.2013 Про затвердження Методичних рекомендацій “Сучасні підходи до лабораторної діагностики сифілісу”
31. Никитин И.Г. Лечение хронического гепатита С:вчера, сегодня, завтра // РЖГГК. - 2002. -№ 6. - С. 11-16.
32. Полимеразная цепная реакция в реальном времени. Режим доступу: <https://diagnostics.roche.com/ru/ru/article-listing/about-pcr.html>
33. Порохницький В.Г., Топольницький В.С. Вірусні гепатити.-Книга плюс, 2010.-480с.
34. Практичний посібник з ІФА НАУ технологічний парк ІМК науково-виробнича компанія “Діапроф-мед”.Київ 2005р.
35. Скачко Б.Г. ВІЛ,СНІД Профілактика, Лікування, Реабілітація. - Київ:Медицина, 2006.-192с.

36. Скачко Б.Г. Гепатит Профілактика, Лікування, Реабілітація. - Київ: Медицина, 2006. - 224с.
37. Статистика з ВІЛ/СНІДу. Режим доступу: <https://phc.org.ua/kontrol-zakhvoryuvan/vilnid/statistika-z-vilnidu>
38. Технологии молекулярных решений Roche Diagnostics/ Режим доступу: <https://diagnostics.roche.com/ru/ru/article-listing/molecular-solution-technologies.html>
39. Чорновіл А.В., Грицко Р.Ю. Інфекційні хвороби.- Київ: Медицина, 2010.- 432с.
40. Шегедин М.Б., Нужна Т.О. Дерматологія, Венерологія та клінічна оцінка результатів лабораторних досліджень.- Київ: Медицина., 2010.- 504с.
41. Шляхтенко Л.И., Мукомолов С.Л., Сулягина Л.Г. и др. Пути совершенствования эпидемиологической диагностики вирусных гепатитов В и С // Мир вирусных гепатитов. 2006. - № 1. - С. 2-10.