

КИЇВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ

ТАРАСА ШЕВЧЕНКА

ННЦ «Інститут біології та медицини»

Кафедра вірусології

Зав. кафедри д.б.н., проф. І.Г. Будзанівська

Протокол № _____ засідання кафедри

від “ _____ ” _____ 2023р.

**ВИЯВЛЕННЯ ВІРУСНОГО ГЕПАТИТУ С СЕРЕД ПАЦІЄНТІВ ТОВ
«СІ ЕС ДІ ЛАБ» ЗА ПЕРІОД 2021-2022 рр.**

Кваліфікаційна робота магістра
денної форми навчання
за спеціальністю 091 «Біологія»
Мар'яни ГУБКО

Науковий керівник від кафедри
канд. біол. наук. доцент
Олена АНДРІЙЧУК

Робота виконана в ТОВ «СІ ЕС ДІ ЛАБ», науковий керівник: медичний
директор Оксана СУЛАЄВА

Оцінка захисту роботи

Київ- 2023

ЗМІСТ

ВСТУП	4
РОЗДІЛ 1. Загальна характеристика вірусу гепатиту С.....	6
1.1 Геном та морфологія вірусу гепатиту С.....	6
1.2. Етіологія вірусу гепатиту С	9
1.3. Епідеміологія вірусу гепатиту С.....	11
1.4. Патогенез вірусу гепатиту С.....	13
1.5. Клінічна картина вірусу гепатиту С	17
1.6. Аспекти перебігу гепатиту С у вагітних жінок	22
1.7. Діагностика вірусу гепатиту С	23
РОЗДІЛ 2. Матеріали і методи досліджень	27
2.1. Матеріали використані в роботі	27
2.1.1. Склад тест-системи «Vitrotest Anti – HCV»	27
2.1.2. Склад набору для екстракції РНК «GeneProof PathogenFree RNA Isolation Kit»	28
2.1.3. Склад тест-системи « GeneProof Hepatitis C Virus (HCV) Diagnostic PCR Kit».....	28
2.2. Методи дослідження	30
2.2.1. Імуноферментний аналіз	30
2.2.2. Виділення РНК	31
2.2.3. ПЛР у реальному часі.....	32
2.2.4. Обробка отриманих даних	33
РОЗДІЛ 3. Результати досліджень та їх обговорення	34
3.1. Об’єкти дослідження.....	34

3.2 Аналіз виявлення сумарних антитіл до вірусу гепатиту С у період з 2021 – 2022 рр.	37
3.3 Аналіз виявлення РНК вірусу гепатиту С, якісне визначення у період з 2021 – 2022 рр.....	42
3.4 Аналіз виявлення РНК вірусу гепатиту С, кількісне визначення у період з 2021 – 2022 рр.....	45
3.5 Оцінка частоти виявлення вірусу гепатиту С, серед пацієнтів у період з 2021 – 2022 рр.....	48
ВИСНОВКИ	53
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	54

ВСТУП

Національні експерти оцінюють, що до 5% населення України можуть бути інфіковані вірусом гепатиту С (ВГС), зокрема хронічним ВГС страждають близько 3,6% населення. Проте більшість хворих не знають про свій статус, оскільки не проходять підтверджувальну діагностику та не отримують лікування [5]. За оціночними даними, в Україні більше 1,3 мільйона осіб мають ВГС. Хоча тестування проводиться достатньо широко, більшість інфікованих осіб не потрапляють до офіційної статистики та системи медичного спостереження.

Останніми роками стала актуальною проблема ВГС для медичної науки та практичної охорони здоров'я в Україні. У зв'язку з цим існує необхідність збір і аналіз фактичних даних про масштаби розповсюдженості ВГС, клініко-епідеміологічні особливості, частоту передачі збудника через природні і штучні шляхи, а також роль даної інфекції у структурі вірусних гепатитів та інфекційної патології загалом. На даний момент, матеріали щодо цих питань знаходяться в стадії накопичення, а дана тема залишається актуальною для подальших досліджень [5.7].

Метою роботи було провести аналіз виявлення і поширення вірусного гепатиту С серед пацієнтів Клініко – діагностичної лабораторії ТОВ «СІ ЕС ДІ ЛАБ» за період 2021-2022 рр.

Для досягнення мети були поставлені наступні завдання:

1. Постановка реакції на виявлення сумарних антитіл до вірусу гепатиту С в сироватці крові пацієнтів імуноферментною тест – системою «Vitrotest Anti – HCV».
2. Проведення ПЛР для виявлення РНК вірусу гепатиту С якісне та кількісне визначення.
3. Опрацювання загального масиву отриманих результатів в період з 2021-2022 рр.

4. Статистична обробка даних, оцінка поширеності вірусу гепатиту С серед пацієнтів Клініко-діагностичної лабораторії ТОВ «СІ ЕС ДІ ЛАБ» в період з 2021-2022 рр.

РОЗДІЛ 1. ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА ВІРУСУ ГЕПАТИТУ С

1.1 Геном та морфологія вірусу гепатиту С

РНК (геном) ВГС складається з одноланцюгової позитивної РНК довжиною приблизно 9600 нуклеотидних основ. Геном ВГС містить одну довгу відкриту рамку зчитування (3006-3037 кодонів), оточену 5'- і 3'-нетрансльованими ділянками (UTR). Геном РНК ВГС використовується як для трансляції, так і для транскрипції [4,5].

Ділянка 5'-UTR вірусу гепатиту С є дуже консервативною і включає спеціальний сайт, який контролює реплікацію геному і трансляцію вірусного поліпротеїну. Ця ділянка має довжину близько 340 нуклеотидів та містить 4 високоструктуровані домени: I-IV. Перші 125 нуклеотидів 5'-UTR, які включають домени I і II, є важливими для реплікації вірусної РНК. Домени III-IV утворюють внутрішній рибосомальний сайт входу (IRES), який забезпечує зв'язування рибосоми та ініціює трансляцію вірусного поліпротеїну незалежним від кепку способом [4,5]. Для ініціації синтезу білка HCV потрібно впорядкувати рибосомні комплекси перед ініціацією, починаючи з асоціації субодиниці 40S рибосоми з мРНК. Незалежна від кепу трансляція починається зі зв'язування рибосоми 40S і сканування до ініціаційного кодону, за яким слід асоціація з рибосомною субодиницею 60S для утворення активної рибосоми 80S. IRES HCV складається з високоструктурованих доменів, які позначаються від II до IV [5,7].

Вирішальну роль у реплікації HCV відводиться області 3'-UTR довжиною 400 нуклеотидів. Ця область є висококонсервативною і складається з трьох функціональних частин: варіабельної послідовності з 40 нуклеотидів, змінної внутрішньої частини, багатой на полі (U/UC),

завдовжки від 30 до 80 нуклеотидів (залежно від штамів HCV), за якою слідує висококонсервативний X-хвіст з 98 нуклеотидів. X-хвіст містить три стабільні структури стовбурової петлі (SL), які позначені як 3'SL1, 3'SL2 та 3'SL3 [4,5].

Трансляція відбувається в ендоплазматичному ретикулумі і ініціюється IRES на 5'UTR. Один попередник поліпротеїну обробляється клітинними та вірусними протеазами на десять білків. Три структурні білки (ядро, E1, E2) розташовані в аміно-термінальній частині поліпротеїну і є важливими компонентами віріонів. Сім неструктурних білків (p7, NS2, NS3, NS4A, NS4B, NS5A, NS5B) розташовані в решті частини поліпротеїну і ці білки беруть участь у морфогенезі частинок, реплікації РНК і регуляції функцій клітин. Варто зазначити, що структурні та неструктурні білки ВГС є багатофункціональними [4-7].

ВГС — це невеликий вірус із одноланцюговим позитивним РНК-геномом із оболонкою, що належить до родини *Flaviviridae*, роду *Hepacivirus*. Аналіз вірусів із плазми та супернатанту клітинної культури показав, що оболонкові частинки мають ікосаедричну форму та діаметром 56-65 нм, а ядро вірусу має приблизно 45 нм. Вірусні спайки на мембрані віріона мають близько 6 нм і утворені гетеродимерами глікопротеїнів E1 і E2 [4,5].

Фактично, популяція позаклітинних частинок HCV неоднорідна. Частинки є плеоморфними, а розмір, плавуча щільність та інфекційність можуть значно відрізнятись. Переважна більшість частинок неінфекційні. Цікаво, що плавучість інфекційних частинок, виділених із сироватки та із середовища клітинної культури, різна. Значна кількість частинок пов'язана з клітинними ліпопротеїдами, що робить це відмітною ознакою ВГС. Схема ліпопротеїнів, асоційованих з вірусом, може відрізнятись, і деякі з них найчастіше асоціюються з HCV: ліпопротеїни низької щільності (ЛПНЩ), ліпопротеїни дуже низької щільності (ЛПНЩ) і аполіпопротеїни (Аро) А1,

В, С і Е (Рис.1.1) [8]. Вірусні частинки, пов'язані з ліпопротеїнами, називаються «ліповірусними частинками (LVP)» [5, 8-9,11].

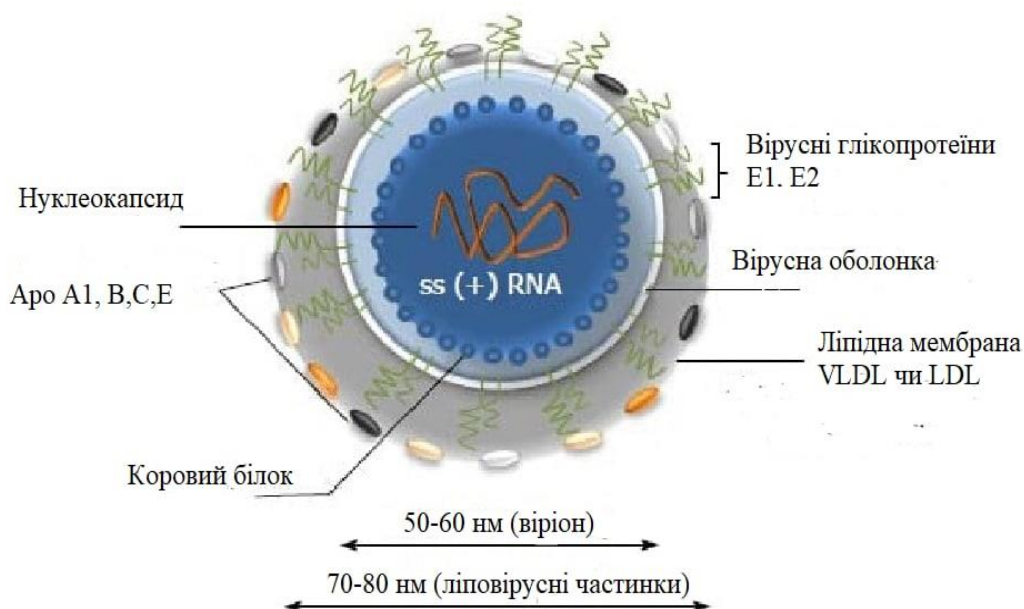


Рис 1.1 Модель ліповірусної частинки вірусу гепатиту С [3]

Ядро HCV – це вірусний нуклеокапсидний білок, який складається з 191 амінокислоти HCV, яке має багато функцій, таких як зв'язування з РНК, клітинну передачу сигналів, імунну модуляцію, аутофагію та може мати потенційно онкогенний ефект. Ядро можна розділити на три домени на основі гідрофобності.:

- Домен 1 (амінокислоти 1 - 117) містить переважно основні залишки з двома короткими гідрофобними ділянками.
- Домен 2 (амінокислоти 118-174) менш основний і більш гідрофобний, а його С-кінець знаходиться в кінці р21.
- Домен 3 (амінокислоти 175-191) дуже гідрофобний і діє як сигнальна послідовність для білка оболонки E1 [5,8].

Основний білок HCV може збиратися на ліпідних краплях, а також утворювати комплекси з HCV E1/E2 - глікопротеїнами I типу, які складаються з N-кінцевого ектодомену та короткого C-кінцевого трансмембранного домену. Трансмембранні білки E1, E2 і типу 1 є ключовими компонентами вірусної оболонки, а також необхідними для проникнення вірусу та злиття з клітиною-хазяїном. На ранніх стадіях вірусної інфекції E2 відіграє життєво-важливу роль, ініціюючи взаємодію з одним або кількома компонентами рецепторного комплексу [25,26]. Функція E1 чітко не зрозуміла, але передбачається, що він бере участь у внутрішньо-цитоплазматичному злитті вірусної мембрани. Оболонка HCV може бути варіабельною, що забезпечує їй високу стійкість до антитіл та сприяє персистенції вірусу [5, 6-9,11]. Основний білок HCV взаємодіє з численними клітинними білками, які впливають на функції клітин-хазяїнів, такі як транскрипція генів, метаболізм ліпідів, апоптоз та сигнальні шляхи. Крім того, коровий білок прямо чи опосередковано бере участь у гепатоканцерогенезі та стеатозному гепатиті. [10].

1.2. Етіологія вірусу гепатиту С

Вірус гепатиту С (HCV) демонструє високу генетичну різноманітність, що характеризується регіональними варіаціями поширеності генотипу. Це створює проблему для вдосконаленої розробки вакцин і пангенотипових методів лікування, що вимагає врахування глобальних тенденцій поширеності генотипу ВГС. Штами ВГС класифікуються на сім визнаних генотипів (1-7) на основі філогенетичного аналізу та аналізу послідовності цілих вірусних геномів [18] штамів ВГС, що належать до різних генотипів, відрізняються на 30-35% нуклеотидних ділянок. У межах кожного генотипу ВГС додатково класифікується на 67 підтверджених і 20 тимчасових підтипів. Штами, які належать до одного підтипу, відрізняються <15%

нуклеотидних сайтів. [12]. Сучасний глобальний географічний розподіл генотипів ВГС є складним. Вже встановлено, що кілька підтипів, зокрема 1a, 1b, 2a і 3a, широко поширені по всьому світу і спричиняють велику частку інфекцій ВГС у країнах з високим рівнем доходу. Вважається, що ці так звані «підтипи епідемії» швидко поширювалися за десятиліття до відкриття ВГС через інфіковану кров, продукти крові, вживання ін'єкційних наркотиків та іншими шляхами [12,13] (рис. 1.2).

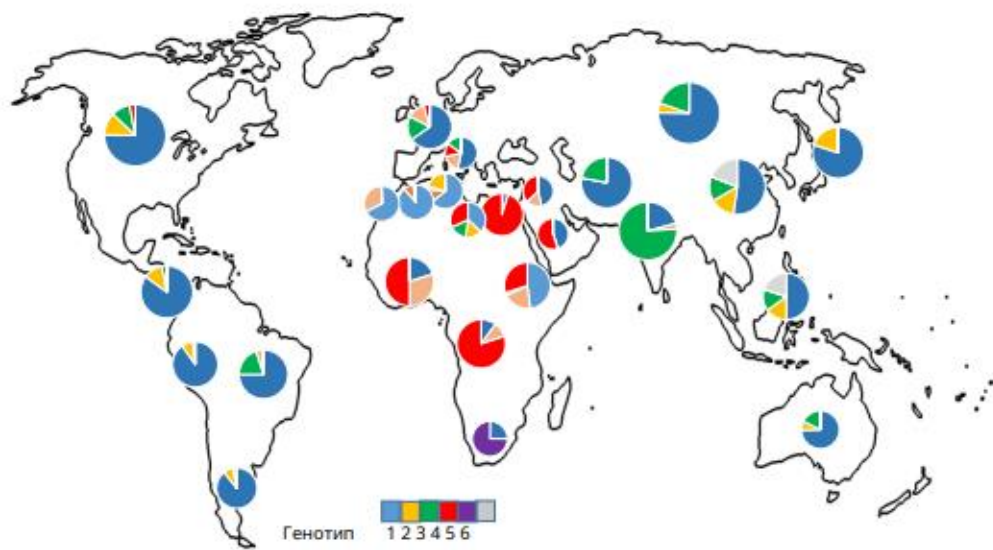


Рис. 1.2 Географічне поширення генотипів вірусу гепатиту С [14]

Багато інших підтипів ВГС вважаються «ендемичними» штамами, вони порівняно рідкісні та циркулювали протягом тривалого періоду часу в більш обмежених регіонах. Ендемічні штами з генотипів 1 і 2 переважно в Західній Африці, 3 - у Південній Азії, 4 - у Центральній Африці та на Близькому Сході, 5 - у Південній Африці та 6 - у Південно-Східній Азії. На сьогоднішній день зареєстровано лише одну інфекцію генотипу 7, його було ізольовано в Канаді від іммігранта з Центральної Африки. Глобальне розповсюдження генетичних варіацій ВГС, ймовірно, відбувалося під впливом історичних і сучасних тенденцій міграції людей. Наприклад, види із

Західної Африки, здається, були перенесені в Америку через трансатлантичну работоргівлю [12,14].

За оцінками, у всьому світі генотип 1 є причиною більшої кількості випадків ВГС, ніж будь-який інший генотип — 83,4 мільйона (46,2%), причому понад третина випадків генотипу 1 припадає на Східну Азію. Генотип 3 ВГС є наступним за поширеністю і, за оцінками, становить 54,3 мільйона (30,1%) випадків у всьому світі, приблизно три чверті з яких припадають на Південну Азію. Генотипи 2, 4 і 6 відповідають за більшість інших випадків ВГС у всьому світі, за оцінками, 16,5 мільйонів (9,1%), 15,0 мільйонів (8,3%) і 9,8 мільйонів (5,4%) випадків відповідно. На Східну Азію припадає найбільша кількість випадків ВГС генотипу 2 і генотипу 6, тоді як у Північній Африці та на Близькому Сході спостерігається найбільша кількість випадків генотипу 4. За нашими оцінками, генотип 5 відповідає за найменшу кількість випадків ВГС у всьому світі (1,4 мільйона, <1% усіх випадків ВГС) [12-14,17].

1.3. Епідеміологія вірусу гепатиту С

ВГС є вірусом, що передається через кров, причому парентеральний вплив є найефективнішим шляхом передачі. У 2020 році в Україні більшість (77,5%) передачі була пов'язана із вживанням ін'єкційних наркотиків. Однак інші форми вживання наркотиків, такі як інтраназальне вживання кокаїну, особливо коли шкіра в носовій порожнині пошкоджена, були пов'язані з інфекцією ВГС, хоча вони не вважаються високим ризиком. Його поширення, виходячи зі швидкості розвитку молекулярного різноманіття, можна оцінити на 500–2000 років [15], що пояснює всесвітнє поширення вірусу та призводить до серйозної глобальної проблеми зі здоров'ям у більшості країн. Гостра інфекція гепатиту С призводить до хронічного

носійства в 70–80% випадків з ризиком розвитку таких ускладнень, як цироз і рак [16-17].

За попередніми оцінками, приблизно 2,8% (діапазон оцінок 2,6%-3,1%) населення світу — понад 184 мільйони осіб — були інфіковані ВГС. [16]. Поширеність інфекції гепатиту С у всьому світі дуже різна, і точні глобальні оцінки ускладнюються високим рівнем недиагностованих захворювань і відсутністю належного збору даних. Новітні епідеміологічні оцінки віремічного гепатиту С становлять 1,0% світового населення, що відповідає меншому числу в 71 мільйон активних випадків. Найвищу поширеність має регіон Східного Середземномор'я (2,3%), за ним слідує Європейський регіон ВООЗ (1,5%), тоді як регіон Південно-Східної Азії має найнижчий поширеність (0,5%). У цих регіонах різниця в поширеності може бути важливою. Наприклад, у Центральній та Східній Європі поширеність HCV може досягати 3,3% або 2,5% (Румунія), тоді як у більшості західноєвропейських країн поширеність нижче 1% [16,17-19].

У 2015 році орієнтовна кількість людей, вперше інфікованих HCV у всьому світі, становила 1,75 мільйона, що відповідає глобальній захворюваності 23,7 на 100 000 населення. Він перевищив суму передбачуваної кількості людей, які померли від термінальної стадії ВГС-інфекції і тих хто вилікувалися, що пояснює постійне зростання глобальної епідемії [16]. Проте розподіл захворюваності в різних регіонах сильно варіюється, що сильно залежить від адекватного застосування універсальних запобіжних заходів у допомозі. У промислово розвинених країнах передача ВГС через продукти крові та ін'єкції, пов'язані з охороною здоров'я, майже зникла з 1990-х років. Однак у країнах, що розвиваються та перехідних країнах, значну частину випадків інфікування становлять небезпечні медичні ін'єкції. У 2000 році ВООЗ підрахувала, що небезпечні ін'єкції становили 40% нових випадків інфікування HCV [13], що призвело до організації безпечних інфекційних кампаній у всьому світі. Десять років потому, у 2010 році, спостерігався значний прогрес, коли абсолютна

кількість HCV-інфекцій, що передаються через ін'єкції, скоротилася на 83%. Проте, за оцінками, приблизно від 160 000 до 315 000 нових випадків інфікування HCV все ще пов'язані з небезпечними ін'єкціями, що трапляється на одну третину в регіоні Східного Середземномор'я та на одну третину в регіоні Західної Тихого океану [15 -19] .

Географічний розподіл захворюваності на ВГС має такий вигляд - райони з високим рівнем нових інфекцій розташовані в регіоні Східного Середземномор'я та Європейському регіоні ВООЗ. У Європейському регіоні захворюваність в основному пов'язана з важким перебігом ВІЛ у країнах Центральної та Східної Європи. Окрім небезпечних ін'єкцій та внутрішньовенних ін'єкцій, в Європі, Австралії та США також повідомлялося про передачу ВГС серед чоловіків, які мають статеві стосунки з чоловіками, інфікованими ВІЛ або навіть серонегативними ВІЛ, але використовують доконтактну профілактику [16,19] . Однак немає оцінок для кількісної оцінки внеску цього способу передачі в загальну передачу ВГС.

В Україні між 2003 і 2009 роками інфекцію HCV реєстрували як гострі та хронічні форми інфекційного процесу в окремій статистичній звітності. Показники захворюваності на клінічно виражені форми ГС, переважно жовтяничні, в Україні за цей період зменшилися з 2,78 до 2,09 на 100 тис. населення, а середній багаторічний показник становив $(2,25 \pm 0,33)$ на 100 тис. населення при вираженому темпі спаду захворюваності на рівні $(-5,68)\%$. Щорічно в Україні реєстрували в середньому 1 061 випадок (95% довірчий інтервал (ДІ) 1001-1 121), з мінімальною кількістю у 2008 році (873) і максимальною - у 2003 році (1 327) [20-21].

З початку 2010 року у статистичних формах звітності почали відокремлено реєструвати випадки гострої та хронічної HCV-інфекції. За останні 10 років (2010-2019 рр.) середні багаторічні показники захворюваності на гостру HCV-інфекцію склали $(1,37 \pm 0,23)$ на 100 тис. населення з вираженою тенденцією до зниження на $(-5,26)\%$, а на хронічну HCV-інфекцію -

(12,63±1,48) на 100 тис. населення з помірною тенденцією до зростання на (+3,13)%. У абсолютних цифрах кількість випадків гострої HCV-інфекції зменшилась з 786 до 483 на рік, тоді як випадки хронічної HCV-інфекції збільшилися з 4 435 до 5 906. Загалом за період з 2010 по 2019 рр. в Україні зареєстровано 5 959 випадків гострої HCV-інфекції та 55 553 випадки хронічної (кумулятивно – 61 512 випадків) [20-21].

1.4. Патогенез вірусу гепатиту С

HCV є нецитопатичним вірусом, який проникає в клітину печінки і піддається реплікації, одночасно викликаючи некроз клітин за кількома механізмами, включаючи імуно-опосередкований цитоліз на додаток до різних інших явищ, таких як стеатоз печінки, окислювальний стрес та резистентність до інсуліну. Білки/пептиди, що кодуються різними субгеномними ділянками геному ВГС, та їх квазівиди впливають на вищезазначений механізм і таким чином, відіграють значну роль у патогенезі ВГС та у причині захворювання [22].

Поступлення ізолятів HCV вимагає принаймні 4 факторів, отриманих від хазяїна, включаючи рецептор-поглинач класу В типу I, Occludin, Claudin-I (CLDN1) і CD81. Крім того, було показано, що CLDN6 і CLDN9 замінюють CLDN1 як фактори входу HCV в клітини печінки людини. Молекула CD81 на поверхні клітини-хазяїна діє як вірусний рецептор, який зв'язується з вірусною частинкою і сприяє її проникненню в клітину печінки [23]. CD81 експресується на поверхні майже всіх клітин із ядрами та комплексів із різними іншими рецепторами клітинної поверхні, такими як CD19 та CD21 на В-клітинах, і посиляє стимулюючий сигнал до клітин. Білок оболонки вірусу, E2, зв'язується з основною позаклітинною петлею CD8 [22-24].

HCV проявляє здатність до багатосайтового зв'язування та може взаємодіяти з різними молекулами, включаючи рецептори ліпопротеїну низької щільності, специфічна для дендритної клітини (DC) молекула міжклітинної адгезії, яка захоплює неінтегрин (DC-SIGN). E2 є найбільш варіабельним вірусним білком, який може зв'язуватися з CD81, але ця взаємодія є штам-специфічна. Він має дві гіперваріабельні області, HVR-1 і HVR-2, які зазнають частих мутацій, можливо, через антитіла, що нейтралізують вірус, і специфічні для HCV цитолітичні Т-лімфоцити (CTL). ВГС також має високий рівень мутацій через відсутність здатності до коректування його РНК-залежної РНК-полімерази. Таким чином, HCV існує у кількох різних, але тісно споріднених видів вірусу всередині інфікованої особи. Ці види називають квазівидами HCV [22-25].

Активация цитокінів, таких як інтерферон (IFN), відбувається при вродженій імунній відповіді на HCV, що в свою чергу стимулює противірусні білки, що пригнічують реплікацію вірусу. Адаптивна імунна відповідь до HCV, в свою чергу, нейтралізує вірусні частинки та знищує інфіковані клітини. Дослідження на шимпанзе, які усувають вірус без специфічної Т-клітинної імунної відповіді, показали, що в деяких випадках вроджена імунна відповідь може бути достатньою для знищення інфекції. Toll-подібний рецептор розпізнає РНК HCV вродженою імунною відповіддю і відповідає продукцією IFN-1 α та IFN-1 β [22]. IFN-1 стимулює експресію ферменту синтази оксиду азоту, який експресується в гепатоцитах і макрофагах. Пацієнти з HCV, які лікуються IFN, мають більш високий рівень індукційної синтази оксиду азоту, що корелює з нижчими рівнями аланінамінотрансферази в сироватці крові. IFN-1 також індукує продукцію білків, таких як протеїнкіназа (PKR), 2',5'-олігоаденілатсинтетаза і білок Mx, які пригнічують реплікацію вірусу в гепатоцитах, намагаючись знищити інфекцію [22, 24-25].

Натуральні клітини, які беруть участь у вродженій імунній відповіді печінки, включають клітини кілери (NK), NK-Т-клітини, клітини Купфера та

дендритні клітини. Після інфікування вірусом гепатиту С (HCV) NK-клітини реагують швидко, направляючи гранули до інфікованих клітин, вивільнюючи перфोरини, що сприяють апоптозу інфікованих клітин. При цьому вони також пригнічують реплікацію вірусу та стимулюють внутрішньо-печінкові запальні клітини та відповідь Т-хелпер 1 (Th1), що в свою чергу індукує апоптоз інфікованої HCV клітини. [22,25]. Дослідження показують, що HCV пригнічує рецепторні гени в активації NK-клітин, знижуючи активність цих клітин шляхом зменшення їх кількості та функції у хронічно інфікованих осіб. Після потрапляння HCV в клітину-хазяїн зв'язування глікопротеїну E2 з рецептором CD81 NK-клітин пригнічує функцію NK-клітин, що змінює імунну відповідь на інфекцію HCV. Глікопротеїн E2 також пригнічує цитотоксичність і продукцію IFN γ NK-клітинами. Дослідження також показали, що нездатність дендритних клітин розпізнавати HCV сприяє персистенції вірусу гепатиту С. [23-24].

Після зараження HCV вірус проявляє експресію гіперваріабельної області NS1/E2 на своїй поверхні, що спонукає В-клітини до вироблення великої кількості антитіл для боротьби з вірусом. Антитіла до HCV з'являються затримкою від 7 до 31 тижнів після зараження. Хазяїн спричинює селективний тиск на HCV, що призводить до варіації нуклеотидів та мутацій в білках оболонки. Вірус може створювати різні геномні варіанти, намагаючись уникнути імунної відповіді. Це дозволяє вірусу уникати гуморальної імунної відповіді, схоже на аутоімунний гепатит 2 типу. HCV може також імітувати імунну систему, що може призводити до втечі вірусу або до імунітету після інфекції. При наявності імунокомплексів можуть виникати позапечінкові прояви, такі як артрит, кріоглобулінемія, васкуліт, гломерулонефрит, синдром Сікка та свербіж, які можуть значно погіршувати стан здоров'я. [24].

Інфекція HCV призводить до зміни загального метаболізму, що спричинює розвиток стеатозу, фіброзу, запалення, апоптозу та інсулінорезистентності (IR) протягом хвороби. Захворювання HCV може

модифікувати патогенез печінки через розвиток інсулінорезистентності. IR сприяє збільшенню ліпогенезу *de novo*, тобто синтезу жирних кислот шляхом надмірної експресії та дозрівання SREBP-1c. Це в свою чергу збільшує активність ліпогенних ферментів, включаючи ацетил-КоА-карбоксилазу та FA-синтазу. У той же час, інтермедіати біосинтезу тригліцеридів також активують інгібітори передачі сигналів інсуліну [24-25].

Згідно з проведеними дослідженнями, існує значна асоціація між інфекцією HCV та стеатозом печінки. Є кілька інших факторів, таких як ожиріння, діабет та вживання алкоголю, які також можуть викликати стеатоз. За дослідженнями, HCV-інфекція може прямо викликати стеатоз у деяких людей. Дослідження на тваринах вказують на те, що білок ядра HCV може допомагати розвитку стеатозу печінки. Крім того, дослідження на генотипи HCV показали, що стеатоз індукується у всіх генотипах HCV, але є більш помітним та частішим при інфекції HCV-генотипу 3. [25,26].

1.5. Клінічна картина вірусу гепатиту С

Гостра інфекція HCV зазвичай протікає без симптомів або з легкими клінічними проявами. Лише 60-70% мають виявлені симптоми від 20% до 30% можуть мати жовтяницю, а 10-20% мають лише неспецифічні симптоми, включаючи анорексію, нездужання та біль у животі [27]. Гостра інфекція з симптомами і типовим жовтяничним перебігом зустрічається нечасто. Коли це виникає, клінічні симптоми, результати біохімічних лабораторних досліджень та гістологія печінки при гострому гепатиті С нагадують симптоми інших форм гострого вірусного гепатиту. Діагностувати ВГС в такому випадку можна лише за допомогою серологічного або вірусологічного дослідження [27-28].

Характерною особливістю гепатиту С є його висока тенденція до переходу у хронічну форму та рідкість випадків фульмінантного захворювання. У гострій фазі пацієнти можуть відчувати втому, анорексію, нудоту та дискомфорт у животі, що є досить неспецифічними симптомами, тому часто діагноз не встановлюється. Деякі пацієнти можуть також відчувати артралгії та кропивницю, що є симптомами, ідентичними тим, що спостерігаються при інфекції гепатиту В. Жовтянична фаза може настати відразу після прояву симптомів або трохи пізніше. Продовження жовтяниці та інших симптомів може тривати від 3 до 12 тижнів. Приблизно 70% пацієнтів реагують на анти-НСV під час появи симптомів, а 97% реактивні протягом 6 місяців після зараження. Важкий гострий гепатит зустрічається рідко, а реальність фульмінантного гепатиту є спірною, хоча в деяких випадках ВГС може бути кофактором ВГБ [27-28,30].

Рівні АЛТ в крові починають підвищуватися незадовго до того, як з'являться будь-які ознаки захворювання. Пікові рівні можуть досягати більш ніж 10-кратного підвищення, але зазвичай залишаються лише помірно підвищеними, меншими, ніж при гострому гепатиті А або В. У пацієнтів із самолімітованим гепатитом рівень АЛТ повертається до нормальних значень, а РНК вірусу стає невизначеною. Рівні антитіл до НСV також знижуються поступово та можуть зникнути повністю. Важливо зазначити, що під час активної фази захворювання концентрації РНК НСV є низькими. З симптомами або без них, інфіковані пацієнти можуть або не розвивати відповідь антитіл, або втратити її [27-29].

Вірусний гепатит С часто виявляється в розвинених країнах і він має тенденцію бути субклінічним, тому більшість пацієнтів виявляють під час оцінки аномальних тестів функції печінки під час звичайного медичного обстеження. Симптоми зазвичай є мінімальними або відсутніми, хоча деякі пацієнти можуть відчувати втому. Лише у пацієнтів зі значним ураженням печінки можуть виникнути болі в животі, втрата апетиту, свербіж, втрата ваги та загальне нездужання. Хоча більшість пацієнтів з хронічним

гепатитом С повідомляють про один з перерахованих симптомів, їх тяжкість не має точної кореляції з рівнем АЛТ в сироватці крові. При цьому, підвищений рівень АЛТ в сироватці крові спостерігається лише у 2/3 пацієнтів, а решта 30% мають стабільно нормальний рівень АЛТ, незалежно від наявності віремії [27-29].

Хронічний гепатит С зазвичай проходить без симптомів і може бути виявлений тільки під час біопсії печінки, за винятком пацієнтів з цирозом (10%). Існує три групи пацієнтів з хронічним гепатитом С: перша група має мінімальні ознаки хвороби і довгостроковий прогноз зазвичай сприятливий. Друга група пацієнтів має хронічний гепатит С легкого ступеня, що характеризується підвищеним рівнем АЛТ, який може коливатися з часом. У цю групу входить приблизно 50% вперше діагностованих пацієнтів. Гістологічні дослідження печінки показують легкі некрозапальні ураження з незначним або слабким фіброзом. Ця група, як правило, прогресує дуже повільно, і довгостроковий ризик розвитку цирозу низький. Ця форма є найпоширенішим типом хронічного гепатиту С у молодих пацієнтів. Третя група пацієнтів із хронічним гепатитом С середнього та важкого ступеня становить близько 25% уперше діагностованих пацієнтів. Цих пацієнтів важко відрізнити від пацієнтів з легким хронічним гепатитом. Тромбоцитопенія або підвищення рівня гамма-глутамілтранспептидази, феритину або гамма-глобуліну в сироватці крові, якщо вони присутні, зазвичай вказують на більш запущене захворювання. Біопсія печінки є найбільш точним способом виявлення таких форм гепатиту та підтвердження прогнозу. Він показує виражені некрозапальні ураження та великий фіброз або в деяких випадках розвинений цироз. Ця закономірність частіше зустрічається у літніх пацієнтів [27-28,30].

Оцінка Metavir зазвичай використовується в Європі для гістології печінки. Він включає лінійні оцінки некрозапальної активності (A0: відсутність запалення, A3: висока некрозапальна активність) і фіброзу (F0: відсутність фіброзу до F4: цироз) [27]. Нещодавнє дослідження показало, що

серед 864 пацієнтів із РНК ВГС, 99% пацієнтів із підвищеним рівнем АЛТ мали принаймні F1; 88% мали більше, ніж A1F1 [27]. Серед пацієнтів із «постійно нормальними» значеннями АЛТ 65% мали бал принаймні F1, а 26% – вище A1F1. Ці результати вказують на те, що майже всі РНК-позитивні пацієнти з ВГС з підвищеним рівнем АЛТ демонструють певний ступінь фіброзу. Однак значна частина пацієнтів зі стабільно нормальним показником АЛТ також має деякі гістологічні ознаки фіброзу; ступінь фіброзу зазвичай легкий, але іноді більш виражений, а в рідкісних випадках може бути присутнім цироз. У цій групі пацієнтів слід додатково оцінити показання до біопсії печінки та потенційну користь від терапії, що вказує на необхідність перегляду алгоритму біопсії печінки [27-30].

Через м'який перебіг HCV-інфекції його значення з точки зору захворюваності було поставлено під сумнів. Точне визначення природного анамнезу ускладнюється відсутністю ранніх симптомів і тим, що середня тривалість розвитку до кінцевої стадії захворювання печінки займає від 30 до 40 років. Спектр результатів коливається від дуже повільного прогресування протягом 50 років до прискореного прогресування цирозу протягом 5 років [29].

Цироз, пов'язаний з HCV, може протікати безсимптомно протягом багатьох років. Клінічні симптоми портальної гіпертензії або печінкової недостатності з'являються на пізніх стадіях. Безсимптомний цироз часто виявляється при біопсії печінки. У багатьох випадках цироз діагностується на стадії ГЦК та/або декомпенсованого цирозу. Клінічний огляд разом з ультразвуковим дослідженням або біохімією допомагають передбачити цироз. Рівень смертності від цирозу, пов'язаного з ВГС, через портальну гіпертензію, печінкову недостатність або ГЦК становить від 2% до 5% на рік. Цироз, пов'язаний з HCV, є найбільш актуальним показанням для трансплантації печінки [27-28].

Обговорюючи позапечінкові прояви ВГС, необхідно розрізняти синдроми, у яких роль гепатиту С добре встановлена (наприклад,

есенціальна змішана кріоглобулінемія та гломерулонефрит), і синдроми, при яких вона все ще недостатньо вивчена, хоча клінічно значуща (наприклад, дисфункція щитовидної залози). Інші, менш поширені прояви, такі як аутоімунні розлади, також становлять інтерес [30].

Есенціальна змішана кріоглобулінемія характеризується клінічною тріадою пурпури, артралгії та станів, пов'язаних із ураженням різних органів, включаючи гломерулонефрит, генералізований васкуліт та периферичну нейропатію. Про існування причинного зв'язку між HCV та есенціальною змішаною кріоглобулінемією свідчить концентрація РНК HCV у кріокриті разом із антитілами до HCV. Кріоглобулінемія набагато частіше зустрічається при запущеній стадії захворювання та цирозі. Тільки в 10% випадків є справді симптоматичними. Ретельний пошук як кріоглобулінів, так і клінічних проявів виявив високу частоту артритів, васкулітів, артеріальної гіпертензії, пурпури, ураження нирок та периферичної нейропатії у випадках хронічного гепатиту С. На причинно-наслідковий зв'язок також припускає успішний вплив інтерференової терапії [31-32]. Дійсно, кліренс РНК HCV, викликаний противірусною терапією, пов'язаний зі зниженням концентрації кріоглобуліну, покращенням клінічних симптомів та ниркової функції

Інші розлади, пов'язані з інфекцією HCV, наприклад:

- Пізня шкірна порфірія - особливо поширена в південній Європі. Часто це пов'язано з надмірним вживанням алкоголю;
- Плоский лишай - був виявлений у пацієнтів з хронічним активним гепатитом С і може бути пов'язаний з тривалим перебігом інфекції. Він частіше носить генералізований тип і пов'язаний з високою частотою ураження слизових оболонок;
- Тиреоїдит Хашимото - порушення функції щитовидної залози зустрічається у 5-12% пацієнтів з хронічним гепатитом С. Дисфункція щитовидної залози здебільшого обмежується

випадками з високим титром тиреоїдних антитіл, а наявність таких антитіл до початку терапії пов'язана з високим ризиком розвитку тиреоїдиту під час лікування інтерфероном.

- Цукровий діабет та поява інсулінонезалежного діабету[27-28,30].

1.6. Аспекти перебігу гепатиту С у вагітних жінок

У вагітних жінок частота виявлення антитіл до ВГС є такою ж, як і в загальному населенні - приблизно 1-2% в Європі. Ризик зараження збільшується у вагітних жінок, які мають значні фактори ризику, такі як внутрішньовенна наркоманія або ко-інфекція ВІЛ. Більшість вагітних жінок, які страждають від ВГС, не мають погіршення клінічного перебігу захворювання. Однак останні дослідження показують, що у вагітних жінок з ВГС може збільшуватись ризик передчасного розриву плодової оболонки та розвитку гестаційного діабету, особливо у вагітних з надмірною вагою. Немовлята, народжені від жінок з ВГС, можуть мати низьку вагу при народженні та набути ризик розвитку неонатальної жовтяниці. В окремих випадках вони можуть потребувати допоміжної вентиляції легень[34-35].

Передчасний розрив плодової оболонки, що відбувається більше ніж за 6 годин до настання пологів, пов'язаний зі збільшеним ризиком передачі ВГС під час пологів. Амніоцентез може бути потенційним ризиком передачі ВГС на немовля, хоча ВГС виявлено у амніотичній рідині тільки у 6,3% матерів з віремією, які пройшли амніоцентез на четвертому місяці вагітності. Інвазивний моніторинг плода під час пологів за допомогою скальп-електрода або контакту немовляти з материнською кров'ю, що інфікована ВГС через розрив піхви або промежини під час вагінальних пологів, може збільшити ризик передачі ВГС через промежину [34-36].

Вертикальна передача гепатиту С прямо корелює з вірусним навантаженням. Загалом більш висока концентрація РНК ВГС у сироватці означає підвищену ймовірність вертикальної передачі, особливо якщо віремія висока під час пологів. Багато немовлят, народжених від HCV-інфікованих матерів, пасивно отримали трансплацентарні антитіла до імуноглобуліну G до 18 місяців життя, що робить тестування на антитіла (анти-HCV) новонародженого малоцінним. Тестування на РНК ВГС пуповинної крові може дати хибнопозитивні та хибнонегативні результати. Вірусемію можна виявити приблизно у 70% вертикально інфікованих немовлят до року; крім того, 90% матимуть виявлені рівні РНК ВГС у віці трьох місяців. Таким чином, діагноз вертикальної інфекції встановлюється за наявності виявленої сироваткової РНК ВГС у двох випадках, оцінених через три-чотири місяці, після того, як немовля виповнилося щонайменше два місяці, та/або за виявленням антитіл проти ВГС у 18 років [34,37].

1.7. Діагностика вірусу гепатиту С

Для діагностики інфекції ВГС використовують дві категорії лабораторних тестів: серологічні тести, які виявляють наявність специфічних антитіл до ВГС (анти-ВГС) «непрямі тести», та «прямі тести», які можуть визначити кількість або характеристики компонентів вірусних частинок ВГС, таких як РНК HCV і коровий антиген. Ці тести важливі для діагностики інфекції, прийнятті рішень щодо лікування та оцінки вірусологічної відповіді на застосовану терапію. [38].

Інтервал між моментом інфікування ВГС та появою виявлення специфічних антитіл може різнитися у різних пацієнтів, це явище називають "серологічним вікном". За допомогою сучасних тестів, сероконверсія, тобто поява антитіл, можна зафіксувати зазвичай через 6-8 тижнів після початку

інфекції. У деяких пацієнтів, у яких інфекція пройшла безсимптомно, анти-HCV можуть зберігатися протягом усього життя, дещо знижуватися, залишаючись виявленими, або поступово зникати через кілька років. У пацієнтів з хронічною інфекцією, анти-HCV можуть зберігатися на невизначений термін, але можуть стати невиявленими у випадку, таких пацієнтів, що перебувають на гемодіалізі або з глибокою імуносупресією, можуть спостерігатися особливості у збереженні антитіл. [38,40].

Аналізи на виявлення анти-HCV були створені та покращені після відкриття вірусу, оскільки була важлива потреба в перевірці донорської крові та запобіганні передачі. Зазвичай, анти-HCV виявляють за допомогою імуноферментного аналізу (ІФА). З 1989 року розроблено три покоління ІФА. Дослідження першого покоління, яке включало рекомбінантний епітоп с100-3 з області NS4, використовували до 1992 року, коли їх замінили аналізами другого покоління. Аналізи другого покоління додатково включали епітопи с22-3 і с33с з ядра HCV і регіонів NS3 відповідно. Аналіз третього покоління містив реконфігуровані антигени ядра та NS3, а також нововведений антиген із області NS5. [35-38].

Було задокументовано, що період вікна скорочується з приблизно 16 тижнів до 10 тижнів і, нарешті, до 8 тижнів із запровадженням ІФА проти HCV першого, другого та третього покоління відповідно. Нове покоління доступних імуноаналізів, тобто тести четвертого покоління – це тести, які одночасно визначають капсидний антиген HCV, а також антитіла до ядра, NS3, NS4 та NS5 областей вірусу. Ці аналізи ще більше скоротили період вікна виявлення ВГС на 17 днів до вже існуючих аналізів[39].

За останні десять років було розроблено кілька методів визначення основного антигену HCV за допомогою ELISA. Ці методи були розроблені як альтернатива NAT (тестам ампліфікації нуклеїнової кислоти) для використання в умовах з обмеженими ресурсами, де молекулярні лабораторії недоступні або не використовуються широко через проблеми з витратами. ELISA-аналізи є зручними для користувача, вимагають менших технічних

знань та менш дорогі порівняно з молекулярними методами. В оцінках переливання крові було виявлено, що аналіз HCVcore Ag виявляє інфекцію HCV так само ефективно, як NAT, приблизно на 40-50 днів раніше, ніж поточні аналізи третього покоління для скринінгу анти-HCV. Рівні основного антигену HCV відображають динаміку РНК HCV та дозволяють клінічний моніторинг терапії пацієнтом, незалежно від генотипу HCV. Однак, основним обмеженням HCV Ag-аналізу є його нижча чутливість, що обмежує його корисність.[38-40].

Молекулярні методи вірусології є надзвичайно важливими у діагностиці та моніторингу лікування ВГС. Оскільки культивувати вірус у клітинній культурі є викликом, молекулярні методи стали ключовими при першій ідентифікації HCV, що робить його одним з перших патогенів, що були ідентифіковані виключно молекулярними методами. Для виявлення активної реплікації HCV NAT вважається «золотим стандартом». Цей метод є надзвичайно корисним при встановленні діагнозу гострої інфекції HCV, оскільки РНК можна виявити вже через 1 тиждень після впливу голкою або переливання крові, та щонайменше за 4-6 тижнів до сероконверсії, як показано в декількох випадках передачі. Для встановлення діагнозу інфекції HCV проводять скринінг на антитіла, а також NAT на РНК HCV для підтвердження та подальшого спостереження за пацієнтами, що перебувають на лікуванні [38-41] .

Традиційно якісні NAT використовуються як діагностичний інструмент для підтвердження ВГС. Для цих аналізів зазвичай використовуються звичайна RT-PCR або TMA. Сучасні показання для застосування якісної NAT полягають у підтвердженні наявності віремії (зокрема, низькорівневої віремії) у пацієнтів з реактивними результатами на анти-HCV та у скринінгу донорської крові на наявність інфекції HCV. Однак, у разі наявності більш чутливих кількісних ПЛР з нижньою межею виявлення (LOD) до 30 копій/мл, якісні аналізи відійшли на другий план, особливо у діагностичних лабораторіях [38].

Кількісна оцінка РНК HCV може бути здійснена багатьма методами. Зазвичай доступні формати включають технологію кількісної RT-PCR (qRT-PCR) і розгалуженої дезоксирибонуклеїнової кислоти (bDNA). Завдяки своїй хорошій чутливості (99%) і специфічності (98-99%) кількісна ПЛР замінила якісну ПЛР [38-39].

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

2.1. Матеріали використані в роботі

2.1.1. Склад тест-системи «Vitrotest Anti – HCV»

- ІФА-планшет – 12 стрипів по 8 лунок (з можливістю відокремлення лунок), з іммобілізованими рекомбінантними антигенами вірусу гепатиту С – Core (ряд А та Е), NS3 (ряд В та F), NS4 (ряд С та G) та NS5 (ряд D та H);
- Позитивний контроль – 1 мікропробірка, що містить 1 мл розчину імуноглобулінів людини, специфічних до вірусу гепатиту С з консервантами;
- Негативний контроль – 1 мікропробірка, що містить 1 мл негативної сироватки крові людини з консервантом;
- Розчин для розведення сироваток РРС – 1 флакон, що містить 12 мл буферного розчину з екстрактом молока, детергентом та консервантами;
- Розчин кон'югату РК – 1 флакон, що містить 12 мл буферного розчину суміші пероксидазних кон'югатів моноклональних антитіл до IgG та IgM людини зі стабілізаторами та консервантом;
- Розчин ТМБ – 1 флакон, що містить 12 мл розчину ТМБ і перекису водню з стабілізатором та консервантом;
- Розчин для промивання Tr100 (20x) – 1 флакон, що містить 50 мл 20-ти кратного концентрату фосфатного буферу з Тритоном X100;
- Стоп-реагент – 1 флакон, що містить 12 мл розчину 0,5 М сірчаної кислоти;

- Клейка плівка – 2 аркуші плівки для заклеювання планшетів під час інкубації.

2.1.2. Склад набору для екстракції РНК «GeneProof PathogenFree RNA Isolation Kit»

- Буфер лізису RAV1 (гуанідиній тіоціанат 30-60 %) 35мл;
- Промивний буфер RAW (гуанідин гідрохлорид 24-36 % + етанол 35-55 %) 30 мл;
- Промивний буфер RAV3 (концентрат) 12 мл;
- Вода без РНКаз 13 мл;
- Буфер для елюції RE (: 5 мМ Tris/HCl, рН 8,5) 13 мл;
- РНК-носій (ліофілізований) 1 мг;
- Стовпчики РНК вірусів 50 шт;
- Етанол 96-100 % .

2.1.3. Склад тест-системи « GeneProof Hepatitis C Virus (HCV) Diagnostic PCR Kit»

- Master mix;
- Калібратор А, ВГС 10^5 МО/мкл;
- Калібратор В, ВГС 10^4 МО/мкл;
- Калібратор С, ВГС 10^3 МО/мкл;
- Калібратор D, ВГС 10^2 МО/мкл;
- Внутрішній контроль.

Додаткові реактиви, матеріали та обладнання:

- деіонізована або дистильована вода;
- фільтрувальний папір;
- мірні циліндри на 10, 200 та 1000 мл;
- одноразові рукавички;
- розчин перекису водню 6%;
- одноразовий або чистий посуд для приготування реактивів (флакони та ванночки);
- одно- та багатоканальні автоматичні піпетки змінного об'єму на 20, 200 та 1000 мкл та наконечники до них;
- термостат на 37°C;
- контейнер для твердих відходів;
- контейнер для рідких відходів;
- автоматичний або напівавтоматичний промивач планшетів (вошер);
- одно- або багатоканальний спектрофотометр (рідер) для мікропланшетів на 450/620-695 нм.
- центрифуга для мікроцентрифужних пробірок;
- система ПЛР в реальному часі BioQuant-96;
- «Vortex»;
- мікроцентрифужні пробірки на 1,5 мл;
- одноразові наконечники;
- засоби індивідуального захисту (халат, рукавички, окуляри).

2.2. Методи дослідження

2.2.1. Імуноферментний аналіз

Виявлення антитіл специфічних до вірусу гепатиту С в тест-системі «Vitrotest Anti-HCV» базується на принципі «непрямого» твердофазного імуноферментного аналізу. Твердою фазою в тест-системі є стрипований ІФА-планшет з попередньо засорбованими в лунках рекомбінантними антигенами вірусу гепатиту С core, NS3, NS4 та NS5. Під час інкубації досліджуваних зразків в лунках ІФА-планшета відбувається зв'язування специфічних до ВГС антитіл з антигенами на твердій фазі.

Після відмивання незв'язаних компонентів в лунки додається суміш кон'югатів антивидових (анти-IgG та анти-IgM) моноклональних антитіл з пероксидазою хрому, що зв'язується з імунними комплексами на твердій фазі. Незв'язані компоненти відмиваються. Візуалізація утворених імунних комплексів відбувається при внесенні в лунки розчину хромогену ТМБ. В результаті реакції розчин в лунках де утворились імунні комплекси забарвлюється в синій колір.

Реакція зупиняється додаванням стопреагенту, при цьому синій колір забарвлених лунок змінюється на жовтий. Результат аналізу визначається на спектрофотометрі при довжині хвилі 450/620 нм.

Діагностичні характеристики тест-системи «Vitrotest Anti-HCV Different» оцінювали за допомогою комерційної панелі виробництва «SeraCare Life Sciences» (США) «Anti-HCV Mixed Titer Performance Panel PHV207», що складається з охарактеризованих зразків сироваток та плазми, які містять та не містять антитіл до різних антигенів ВГС. В тест-системі «Vitrotest Anti-HCV Different» всі позитивні та негативні зразки визначались коректно, відповідно до паспортних даних.

Перевірка на наявність антитіл до ВГС зазвичай виконується в лабораторіях медичних установ за допомогою імунологічного ферментного аналізу (ІФА). Цей аналіз здатний виявити наявність антитіл до ВГС в сироватці або плазмі крові пацієнта. Однак, результати ІФА можуть бути негативними при ранній гострій фазі гепатиту С та серед пацієнтів, які пройшли курс імуносупресивної терапії. Також, після кліренсу вірусу або проходження лікування антитіла до ВГС можуть все ще виявлятися, але їх кількість може зменшуватися і, у деяких випадках, повністю зникнути[42].

2.2.2. Виділення РНК

Виділення РНК проводилося за допомогою набору: «GeneProof PathogenFree RNA Isolation Kit» РНК-віруси швидко та ефективно лізуються буфером лізису RAV1, який є висококонцентрованим розчином GTC (гуанідин тіоціанату). Буфер для лізису та етанол створюють відповідні умови для зв'язування нуклеїнових кислот із силікатною мембраною РНК-вірусних колонок. РНК-носій покращує зв'язування та відновлення низькоконцентрованої вірусної РНК. Забруднення (потенційні інгібітори ПЛР), такі як солі, метаболіти та розчинні макромолекулярні клітинні компоненти, видаляються простими етапами промивання етанольними буферами RAW і RAV3. Нуклеїнові кислоти можна елюювати буфером із низьким вмістом солі або водою, вони готові до використання в наступних реакціях.

Першим етапом є лізис вірусів, для цього необхідно додати 600 мкл буфера RAV1, що містить РНК-носій, до 150 мкл зразка. Піпетувати суміш вгору та вниз та добре перемішати, інкубувати протягом 5-ти хвилин при 70 °С. Час та температура інкубації мають вирішальне значення для лізису, а також для стабільності РНК.

Наступним етапом є створення умов для зв'язування РНК, необхідно додати 600 мкл етанолу (96–100 %) до прозорого розчину для лізису та перемішати за допомогою вортексу (10–15 с). Далі поміщаємо колонки РНК вірусу в пробірки для збору (2 мл) та додаємо 700 мкл лізованого зразка, центрифугуємо 1 хв при 8000xg, далі переносимо колонку з вірусом РНК у нову пробірку для збору (2 мл).

Наступним кроком є промивання – для цього ми додавали 500 мкл буфера RAW до колонки РНК вірусу, центрифугували и 1 хв при 8000xg. Цей етап промивання видаляє забруднення та інгібітори ПЛР. Наступне промивання проводиться за допомогою буфера RAV3, за аналогічною схемою. Далі переміщаємо колонку РНК вірусу в нову пробірку для збору (2 мл) і додаємо 200 мкл буфера RAV3. Центрифугувати 2-5 хв при 11 000 xg, щоб повністю видалити етаноловий буфер RAV3.

Останній крок це елюція вірусної РНК, для цього колонку РНК вірусу переносять в нову стерильну мікроцентрифужну пробірку на 1,5 мл. Додається 50 мкл RE буфера/Н без РНК-ази H₂O (попередньо нагрітій до 70 °C) та інкубується 1-2 хв, після цього пробірку слід центрифугувати 1 хв при 11 000 xg.

2.2.3. ПЛР у реальному часі

Виявлення ВГС базується на ампліфікації однокопійної послідовності 5' UTR РНК і вимірюванні збільшення флуоресценції. Механізм дуплексного націлювання забезпечує максимальну чутливість та специфічність, що дозволяє виявити вірус у зразку до сероконверсії. Специфічність перевіряли для всіх шести ідентифікованих генотипів вірусу, включаючи аналіз *in silico*, що підтверджує правильне виявлення генотипу 7 і нещодавно виявленого генотипу 8.

На наявність ВГС вказує підвищена флуоресценція флуорофора FAM. Внутрішній контроль (IC), який є частиною набору для ПЛР, використовується як контроль для всього діагностичного процесу, тобто ефективності екстракції РНК, ефективності етапу зворотної транскрипції (транскрипції РНК у кДНК) та ефективності ампліфікації ПЛР (ПЛР). гальмування). Позитивне підсилення IC виявляється в каналі флуоресценції HEX флуорофора. Набір ПЛР призначений для діагностики *in vitro* як для якісного, так і для кількісного виявлення, і в ньому використовується технологія «гарячого старту», що мінімізує неспецифічні реакції та забезпечує максимальну чутливість. Готовий до використання Master Mix містить урацил-ДНК-глікозилазу (УДГ), який усуває можливе забруднення ПЛР продуктами ампліфікації.

Діагноз гострої або хронічної інфекції ВГС ґрунтується на виявленні РНК ВГС у сироватці або плазмі за допомогою чутливого якісного або якісно/кількісного молекулярного методу з рекомендованими аналізами з нижньою межею виявлення. ≤ 15 міжнародних одиниць (МО)/мл. Однак у більшості пацієнтів із показаннями до лікування ВГС рівень вірусного навантаження перевищує 50 000 МО/мл [41].

2.2.4. Обробка отриманих даних

Для обробки даних використовувалася програма Microsoft Excel (2013). Для проведення статистичного аналізу був використаний тест χ^2 Пірсона, з Р-значенням менше 0,001, що показує наявність статистично значущих результатів.

РОЗДІЛ 3

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

3.1. Об'єкти дослідження

Об'єктами дослідження даної роботи є пацієнти Клініко – діагностичній лабораторії ТОВ «СІ ЕС ДІ ЛАБ», які проводили діагностику на наступні маркери вірусного гепатиту С:

- сумарні антитіла до вірусу гепатиту С (anti-HCV);
- РНК вірусу гепатиту С, кількісне визначення ;
- РНК вірусу гепатиту С, якісне визначення.

Загалом за 2021 рік на маркери ВГС було отримано – 2290 замовлень. Результати отримані за 2022 рік, дають змогу свідчити про збільшення частоти проведення діагностики на маркери ВГС, адже кількість лабораторних досліджень збільшилась удвічі і становить – 4880 замовлень.

Помітна тенденція нерівномірного розподілу між різними групами населення, оскільки кількість жінок, які проводять діагностику значно переважає кількість чоловіків та дітей. У 2021 році жінки склали 59,25% від загальної кількості обстежених, а в 2022 році - 61,41% (табл. 3.1).

Таблиця 3.1

Кількість лабораторних замовлень у 2021 та 2022 роках

(M±m; n₁=2290; n₂=4880)

Група населення	2021 рік			2022 рік		
	абс. число	%	сер. кількість за місяць	абс. число	%	сер. кількість за місяць
Чоловіки	885	38,64	77,75±12,54	1793	36,74	136,92±74,74
Жінки	1357	59,25	128,58±63,50	2997	61,41	235,67±99,13
Діти	48	2,09	8,17±6,16	90	1,84	17,92±9,59
Загальна кількість	2290	100,00	214,5±80,37	4880	100,00	390,5±162,39

Розподіл замовлень за місяцями дає можливість проаналізувати динаміку змін у кількості досліджень на виявлення вірусного гепатиту. За перші три місяці 2021 року (січень-березень), спостерігалась стабільна кількість досліджень, яка становила в середньому $165,1 \pm 6,24$ замовлень. Однак, у квітні та травні кількість замовлень зменшилась на 4,3%. В період з червня по грудень спостерігалось зростання кількості замовлень, за останній триместр року середня кількість замовлень склала – $319,3 \pm 29,3$ (рис. 3.1).

Це може бути пов'язано з підвищеною увагою до здоров'я в період пандемії COVID-19, яка підкреслила важливість діагностики та профілактики інших захворювань, включаючи вірусний гепатит С.

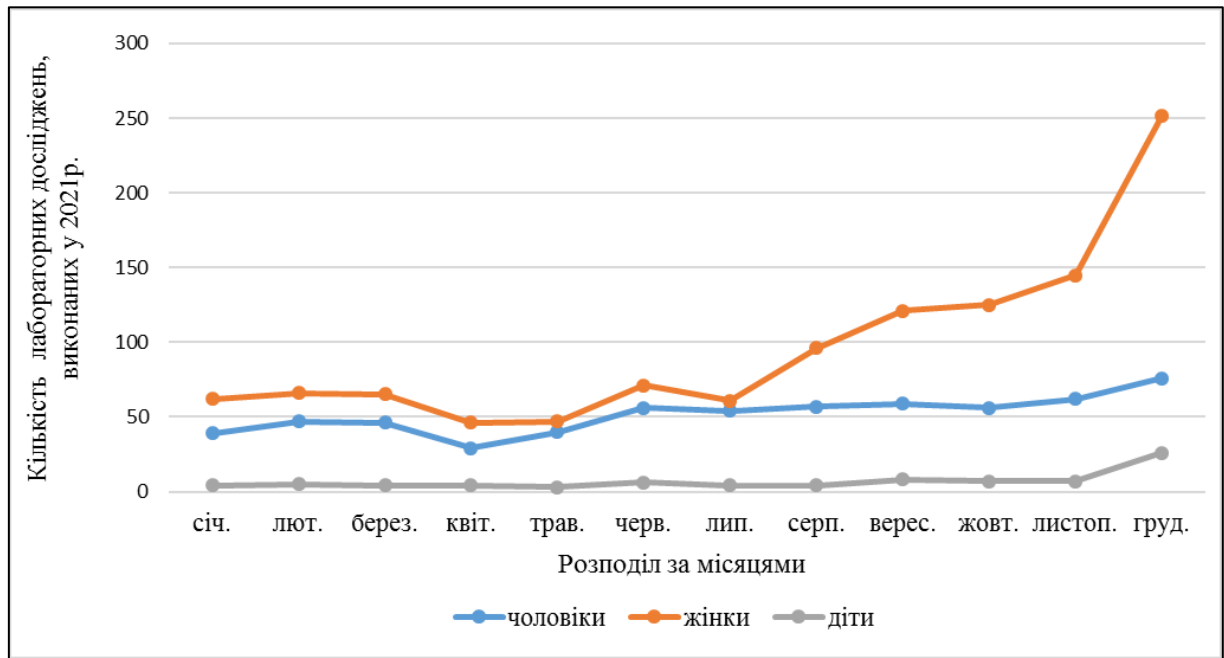


Рис. 3.1 Кількість виконаних лабораторних замовлень в окремі місяці серед різних груп населення у 2021 році

У 2022 році було зареєстровано значне зростання кількості замовлень на дослідження вірусу гепатиту С порівняно з попереднім роком, при цьому середня кількість досліджень за місяць склала $390 \pm 54,59$. Однак, повномасштабна війна росії проти України, яка триває й до нині, суттєво вплинула на проведення досліджень, що призвело до зниження кількості замовлень.

У квітні 2022 року було отримано лише три замовлення на дослідження маркерів гепатиту С, що значно менше, ніж у січні того ж року, коли було отримано 393 замовлення. Аналіз даних за два роки вказує на те, що найбільше замовлень припадає на останній квартал року (рис. 3.2). Особливо значний попит на дослідження маркерів гепатиту С спостерігається в грудні - у 2021 році було зроблено 417 замовлень, а в 2022 році ця цифра зросла до 552.

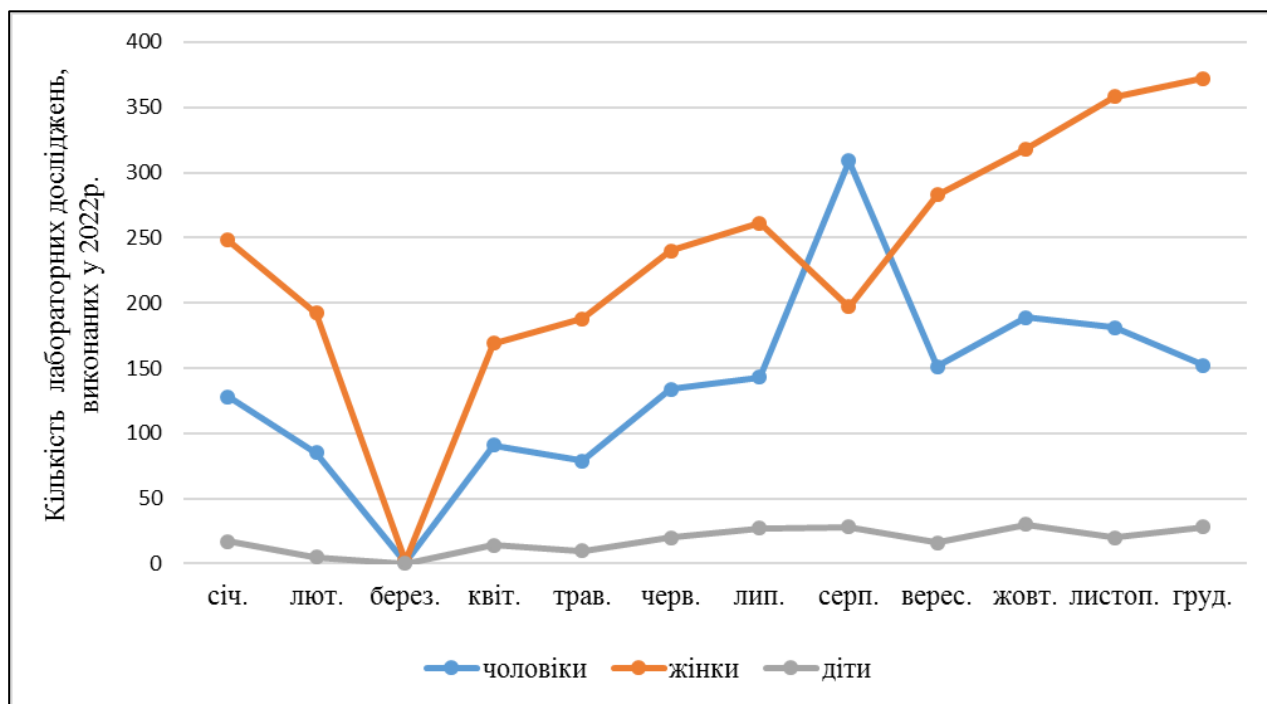


Рис. 3.2 Кількість виконаних лабораторних замовлень в окремі місяці серед різних груп населення у 2022 році

Ці дані вказують на тенденцію збільшення кількості замовлень на дослідження маркерів гепатиту С протягом року, з високим попитом в останньому кварталі, зокрема в грудні. Загалом збільшення кількості замовлень на діагностику вірусу гепатиту С може бути пов'язано зі зростанням усвідомлення громадськості про важливість здоров'я та збереження його, а також з поліпшенням доступності діагностичних послуг.

3.2 Аналіз виявлення сумарних антитіл до вірусу гепатиту С у період з 2021 – 2022 рр.

Загальна кількість осіб, що провели скринінг на виявлення сумарних антитіл до вірусу гепатиту С в 2021 році склали 1535 замовлень. Позитивних результатів отримано 121, у відсоткових значення частота отримання позитивного результату складала 7,88%. Усі пацієнти були розподілені за

віком та статтю, відповідно цього оцінювалась частота отримання позитивного результату у кожній віковій групі. Ми отримали наступні результати – лише вікові групи від 1-17 років та 86-95 мають 100% негативні результати.

Виявлено, що серед жінок та чоловіків найбільший відсоток позитивних результатів до негативних отримала вікова група 56-65 років для жінок відсоток склав 14,86%, а для чоловіків – 16,36%. Жінки віком від 36-45 років та від 66-75 мали також високий відсоток отримання позитивного результату – 10% та 9,26% відповідно (табл. 3.2).

Для чоловіків отримані результати значно відрізняються у категорії віком від 66-75 років, отримані дані значно нижчі ніж відповідні у жінок, частота отримання позитивного результату складає - 5,0%.

Оцінюючи загальні дані по всім віковим групам між чоловіками та жінками, виявлено, що чоловіки у 2021 році отримували позитивний результат з більшою частотою. Найбільш вразливими виділені групи віком від 36-55 років, що може бути корисною інформацією для розробки методів профілактики та ранньої діагностики гепатиту С.

Таблиця 3.2

**Розподіл позитивних та негативних результатів лабораторних
замовлень на сумарні антитіла до вірусу гепатиту С серед чоловіків та
жінок у 2021 році**

Вікові категорії	Негативний результат, жінки		Позитивний результат, жінки		Негативний результат, чоловіки		Позитивний результат, чоловіки	
	абс. число	%	абс. число	%	абс. число	%	абс. число	%
1-17	15	100,0 0	0	0,00	13	100,00	0	0,00
18-25	133	95,68	6	4,32	138	98,57	2	1,43
26-35	329	95,36	16	4,64	128	94,12	8	5,88
36-45	234	90,00	26	10,0 0	121	89,63	14	10,37
46-55	125	91,91	11	8,09	70	87,50	10	12,50
56-65	63	85,14	11	14,8 6	46	83,64	9	16,36
66-75	49	90,74	5	9,26	19	95,00	1	5,00
76-85	18	94,74	1	5,26	20	95,24	1	4,76
86-95	6	100,0 0	0	0,00	8	100,00	0	0,00

У 2022 році було проведено 3667 досліджень на виявлення сумарних антитіл до вірусу гепатиту С, із яких 254 виявились позитивними. Порівнюючи ці дані з 2021 роком, можна стверджувати про зменшення частоти отримання позитивного результату з 7,88% до 6,9%. Аналізуючи

дані окремо за статтю, виявлено, що у жінок частота виявлення позитивного результату знизилась з 7,25% до 6,28%, тоді як у чоловіків спостерігалось збільшення частоти виявлення з 7,40% до 8,10% (табл. 3.3).

При проведенні аналізу для виявлення сумарних антитіл до вірусу гепатиту С, отримано дані про 3 підтверджених випадки інфікування дітей. Це становить 5,35% від загальної кількості дітей, які були протестовані у 2022 році.

Жінки віком від 36-45 років виявилися найбільш вразливою віковою групою серед жінок щодо виявлення сумарних антитіл до вірусу гепатиту С. В цій віковій групі відсоток отримання позитивного результату становив 9,71%. У чоловіків найвищий відсоток був виявлений у групі віком від 46-55 років і склав 9,97%.

Згідно нашим результатам про наявність сумарних антитіл до вірусу гепатиту С серед людей похилого віку, отримано підтверджений випадок у жінки віком від 86-95 та у двох чоловіків віком від 76-85 років. На додаток до цього, молоді люди віком від 18-25 років також мають високі показники - 3,30% у жінок і 4,69% - у чоловіків. Однак, варто зазначити, що діагностику необхідно проводити в будь-якому віці, оскільки, позитивні випадки виявляються абсолютно у всіх вікових групах.

Таблиця 3.3

**Розподіл позитивних та негативних результатів лабораторних
замовлень на сумарні антитіла до вірусу гепатиту С серед чоловіків та
жінок у 2022 році**

Вікові категорії	Негативний результат, жінки		Позитивний результат, жінки		Негативний результат, чоловіки		Позитивний результат, чоловіки	
	абс. число	%	абс. число	%	абс. число	%	абс. число	%
1-17	29	96,67	1	3,33	24	92,31	2	7,69
18-25	264	96,70	9	3,30	122	95,31	6	4,69
26-35	737	95,96	31	4,04	335	93,06	25	6,94
36-45	474	90,29	51	9,71	257	93,12	19	6,88
46-55	284	92,81	22	7,19	298	90,03	33	9,97
56-65	425	95,08	22	4,92	188	92,16	16	7,84
66-75	110	91,67	10	8,33	58	95,08	3	4,92
76-85	30	96,77	1	3,23	22	91,67	2	8,33
86-95	5	83,33	1	16,67	5	100,0 0	0	0,00

3.3 Аналіз на виявлення РНК вірусу гепатиту С, якісне визначення у період з 2021 – 2022 рр.

Діагностика на виявлення РНК вірусу гепатиту С є наступним етапом після аналізу сумарних антитіл, який дозволяє підтвердити наявність вірусу у пацієнта. За результатами скринінгу у 2021 році було проаналізовано 455 осіб, з яких 84 отримали позитивний результат. Відсоток виявлення РНК вірусу гепатиту С становив 18,46%, що свідчить про високий рівень зараження.

Розподіл за статтю показав, що частота виявлення РНК вірусу гепатиту С переважає серед чоловіків. За даними скринінгу, з 234 жінок тільки 34 отримали позитивний результат, у той час як з 221 чоловіків - 48 були позитивні. У відсотках, жінки мали 14,52%, а чоловіки - 21,79%.

За отриманими даними, у 2021 році серед жінок були виявлені випадки інфікування вірусом гепатиту С у всіх вікових категоріях (табл. 3.4). Найбільший відсоток виявлення був у віковій категорії від 66-75 років (27,78%), а також у категорії від 26-35 років (26,0%).

Також були виявлені по одному випадку інфікування у жінок віком від 18-25 (5,26%), та від 76-85 (16,67%) та один підтверджений випадок інфікування дитини.

Дослідження показало, що інфікування вірусом гепатиту С серед чоловіків є досить поширеним у всіх вікових категоріях. Найвищий відсоток виявлення був визначений у чоловіків віком від 46 до 55 років - 36,96%, та у віковій категорії від 56-65 років - 42,86%. У чоловіків віком від 18-35 та від 66-85 років відсоток виявлення становив менше 15%.

Таблиця 3.4

**Розподіл позитивних та негативних результатів лабораторних
замовлень на виявлення РНК вірусу гепатиту С, якісне визначення
серед чоловіків та жінок у 2021 році**

Вікові категорії	Негативний результат, жінки		Позитивний результат, жінки		Негативний результат, чоловіки		Позитивний результат, чоловіки	
	абс. число	%	абс. число	%	абс. Число	%	абс. число	%
1-17	8	88,89	1	11,11	5	100,00	0	0,00
18-25	18	94,74	1	5,26	18	90,00	2	10,00
26-35	29	90,63	3	9,38	36	85,71	6	14,29
36-45	37	74,00	13	26,00	47	82,46	10	17,54
46-55	53	89,83	6	10,17	29	63,04	17	36,96
56-65	32	86,49	5	13,51	12	57,14	9	42,86
66-75	13	72,22	5	27,78	13	86,67	2	13,33
76-85	5	83,33	1	16,67	8	88,89	1	11,11
86-95	5	83,33	1	16,67	5	83,33	1	16,67

За результатами діагностики в 2022 році замовлено 497 тестів на наявність РНК вірусу гепатиту С, з них 82 тестування були позитивними, що становить 16,49% від загальної кількості тестів. Це на 1,97% менше, ніж у минулому році. Розподіл результатів за статтю був таким: було протестовано 401 жінку, з них 48 (11,97%) були позитивні, та 276 чоловіків, з них 34 (12,32%) були позитивні. Порівняно з показниками 2021 року, кількість

позитивних результатів зменшилась на 2,56% серед жінок та на 9,4% серед чоловіків (табл. 3.5).

Таблиця 3.5

Розподіл позитивних та негативних результатів лабораторних замовлень на виявлення РНК вірусу гепатиту С, якісне визначення серед чоловіків та жінок у 2022 році

Вікові категорії	Негативний результат, жінки		Позитивний результат, жінки		Негативний результат, чоловіки		Позитивний результат, чоловіки	
	абс. Число	%	абс. число	%	абс. число	%	абс. число	%
1-17	1	100,00	0	0,00	1	100,00	0	0,00
18-25	11	91,67	1	8,33	11	100,00	0	0,00
26-35	126	94,03	8	5,97	70	92,11	6	7,89
36-45	178	89,45	21	10,55	141	90,38	15	9,62
46-55	55	83,33	11	16,67	27	81,82	6	18,18
56-65	21	80,77	5	19,23	19	79,17	5	20,83
66-75	7	87,50	1	12,50	6	85,71	1	14,29
76-85	2	66,67	1	33,33	1	50,00	1	50,00
86-95	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00

Згідно з отриманими результатами аналізу в 2022 році, було виявлено випадки інфікування серед дорослих пацієнтів різного віку та статі. Діти та літні люди віком від 86-95 років отримали 100% негативні результати. Один

випадок інфікування було виявлено у вікових категоріях від 66-75 та 76-85 років серед обох статей. Найвищі відсотки виявлення інфікування спостерігались у пацієнтів віком від 56-65 років. Для чоловіків відсоток становив 20,83%, а для жінок – 19,23%.

3.4 Аналіз на виявлення РНК вірусу гепатиту С, кількісне визначення у період з 2021 – 2022 рр.

У 2021 році було отримано 177 замовлень на виявлення РНК вірусу гепатиту С кількісне визначення, з яких 58 (32,76%) були позитивними. Серед жінок, які пройшли тестування, 30 з 99 (30,30%) отримали позитивний результат, а серед чоловіків - 28 з 78 (35,90%).

У всіх вікових групах жінок були виявлені позитивні випадки, з найвищим відсотком виявлення серед жінок віком від 56 до 65 років (45,45%). Натомість у чоловіків віком від 18 до 25, 76 до 85 та 86 до 95 років не було виявлено РНК вірусу гепатиту С. У віковій категорії 56-65 років більше половини чоловіків отримали позитивний результат (53,85%), а також високі показники були виявлені серед чоловіків віком від 46 до 55 років (47,37%) (табл. 3.6).

Таблиця 3.6

**Розподіл позитивних та негативних результатів лабораторних
замовлень на виявлення РНК вірусу гепатиту С, кількісне визначення
серед чоловіків та жінок у 2021 році**

Вікові категорії	Негативний результат, жінки		Позитивний результат, жінки		Негативний результат, чоловіки		Позитивний результат, чоловіки	
	абс. число	%	абс. число	%	абс. число	%	абс. Число	%
1-17	2	100,00	0	0,00	3	75,00	1	25,00
18-25	5	83,30	1	16,67	6	100,00	0	0,00
26-35	12	66,67	6	33,33	6	60,00	4	40,00
36-45	12	70,59	5	29,41	9	64,29	5	35,71
46-55	11	73,33	4	26,67	10	52,63	9	47,37
56-65	12	54,55	10	45,45	6	46,15	7	53,85
66-75	10	90,91	1	9,09	4	66,67	2	33,33
76-85	4	66,67	2	33,33	5	100,00	0	0,00
86-95	1	50,00	1	50,00	1	100,00	0	0,00

За результатами діагностики в 2022 році було отримано 200 замовлень на виявлення РНК вірусу гепатиту С, з яких у 57 випадках було виявлено інфікування (28,5%). Порівняно з 2021 роком, спостерігається зниження частоти виявлення на 4,26%. Серед 103 жінок, які пройшли діагностику, у 28 (27,18%) було виявлено позитивний результат, а серед 97 чоловіків, які пройшли діагностику, у 29 (29,90%) було виявлено позитивний результат. Порівняно з 2021 роком, спостерігається зменшення кількості позитивних

випадків серед обох статей. Не було виявлено жодного випадку інфікування серед дітей та людей віком від 86-95 років.

Дані показують, що серед жінок віком від 26-35 років не було жодного позитивного випадку інфікування вірусом гепатиту С. Найвищий відсоток інфікування спостерігався серед жінок віком від 66-75 років (44,44%). Серед чоловіків віком від 76-85 та 86-95 було зафіксовано 100% негативних результатів, тоді як високий рівень інфікування був виявлений серед чоловіків віком від 46-55 (35,00%) та від 36-45 (47,83%) (табл. 3.7).

Таблиця 3.7

Розподіл позитивних та негативних результатів лабораторних замовлень на виявлення РНК вірусу гепатиту С, кількісне визначення серед чоловіків та жінок у 2022 році

Вікові категорії	Негативний результат, жінки		Позитивний результат, жінки		Негативний результат, чоловіки		Позитивний результат, чоловіки	
	абс. число	%	абс. число	%	абс. число	%	абс. число	%
1-17	3	100,00	0	0,00	2	100,00	0	0,00
18-25	6	75,00	2	25,00	6	75,00	2	25,00
26-35	9	100,00	0	0,00	12	75,00	4	25,00
36-45	18	75,00	6	25,00	12	52,17	11	47,83
46-55	17	65,38	9	34,62	13	65,00	7	35,00
56-65	12	70,59	5	29,41	13	76,47	4	23,53
66-75	5	55,56	4	44,44	7	87,50	1	12,50
76-85	4	66,67	2	33,33	2	100,00	0	0,00
86-95	1	0,00	0	0,00	1	0,00	0	0,00

Серед пацієнтів клініко-діагностичної лабораторії, найбільша кількість позитивних результатів дослідження ПЛР ВГС була виявлена у чоловіків віком від 36 до 45 років та у жінок віком від 46 до 55 років (рис.3.3)

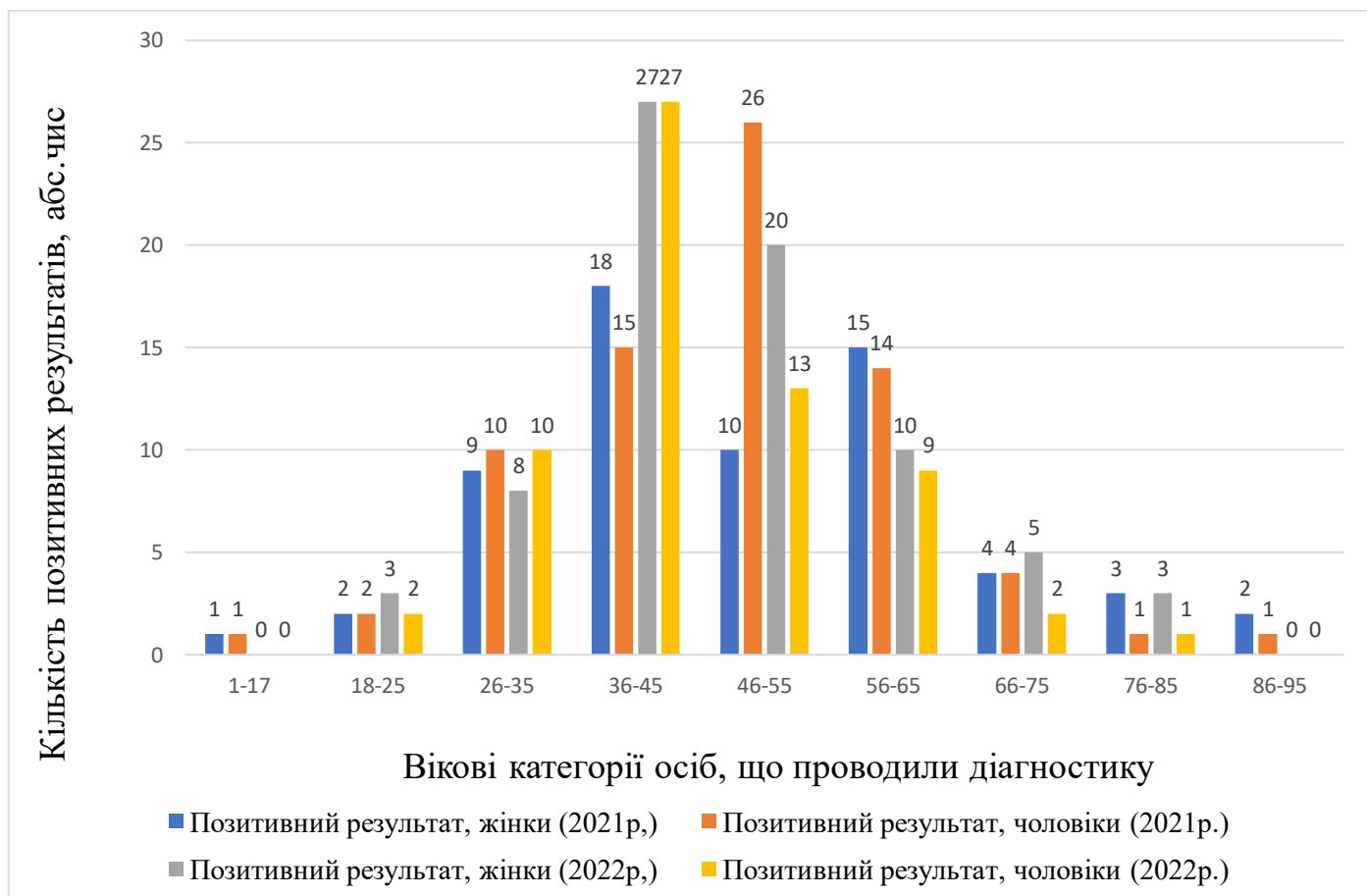


Рис. 3.3 Кількість позитивних результатів ПЛР ВГС у 2021- 2022 рр.

3.5 Оцінка частоти виявлення вірусу гепатиту С, серед пацієнтів у період з 2021 – 2022 рр.

За статистичними даними 2021 – 2022 роках в лабораторії виявлено й офіційно зареєстровано відповідно 261 (12,8%) та 393(9,46%) особи з вірусом

гепатиту С. Кількість інфікованих жінок у 2021 році становить -140 осіб та 121 чоловік. У 2022 році - 224 жінки та 169 – чоловіків.

В ході роботи було визначено, що найбільшу кількість в абсолютних числах позитивних результатів, отримали пацієнти віком від 36 до 45 років. (рис.3.2).

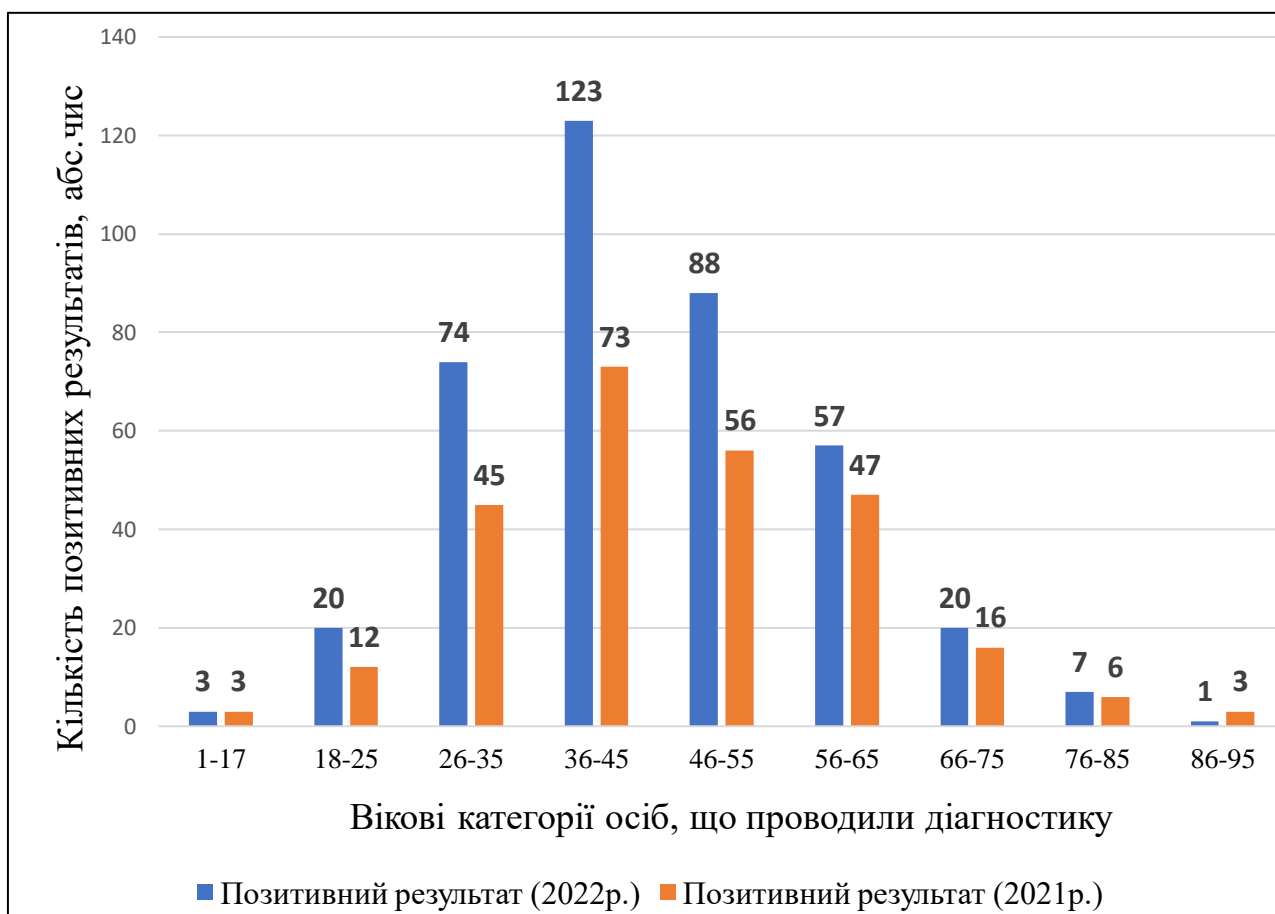


Рис. 3.3 Кількість позитивних результатів у пацієнтів різних вікових груп у 2021 та 2022 рр.

Оцінюючи отримані результати можна стверджувати про високу поширеність ВГС. Загальна серопоширеність антитіл до ВГС становила 7,25% у жінок та 7,40% у чоловіків. Проте РНК-позитивність ВГС була значно більш поширеною серед чоловіків, ніж жінок (табл. 3.8).

Таблиця 3.8

**Результати лабораторних досліджень маркерів вірусного гепатиту
С серед чоловіків та жінок у 2021 році**

Маркер HVC	Негативний результат, жінки		Позитивний результат, жінки		Загальна кількість досліджень маркеру
	абс. число	%	абс. число	%	
Anti-HCV	972	92,75	76	7,25	1048
ПЛР(якісн)	200	85,47	34	14,53	234
ПЛР(кільк)	69	69,70	30	30,30	99
Загалом	1241	89,86	140	10,14	1381
Маркер HVC	Негативний результат, чоловіки		Позитивний результат, чоловіки		Загальна кількість досліджень маркеру
	абс. число	%	абс. число	%	
Anti-HCV	563	92,60	45	7,40	608
ПЛР(якісн)	173	78,28	48	21,72	221
ПЛР(кільк)	50	64,10	28	35,90	78
Загалом	786	86,66	121	13,34	907

При порівняльному аналізі за період 2021-2022 рр. серед пацієнтів клініко – діагностичної лабораторії ТОВ «СІ ЕС ДІ ЛАБ» виявлено тенденцію до зменшення рівня захворюваності на вірусний гепатит С 12,8% (2021 р.) до 9,46 % (2022 р.).

Результати виявлення сумарних антитіл до вірусу гепатиту С серед обстежених жінок показали зменшення з 7,25% (2021 р.) до 6,28% (2022 р.) та збільшення з 7,40% (2021р.) до 8,40% (2022р.) серед чоловіків (табл. 3.9).

Таблиця 3.9

Результати лабораторних досліджень маркерів вірусного гепатиту С серед чоловіків та жінок у 2022 році

Маркер HVC	Негативний результат, жінки		Позитивний результат, жінки		Загальна кількість досліджень маркеру
	абс. число	%	абс. число	%	
Anti-HCV	2210	93,72	148	6,28	2358
ПЛР(якісн)	353	88,03	48	11,97	401
ПЛР(кільк)	75	72,82	28	27,18	103
Загалом	2638	92,17	224	7,83	2862
Маркер HVC	Негативний результат, чоловіки		Позитивний результат, чоловіки		Загальна кількість досліджень маркеру
	абс. число	%	абс. число	%	
Anti-HCV	1203	91,90	106	8,10	1309
ПЛР(якісн)	242	87,68	34	12,32	276
ПЛР(кільк)	68	70,10	29	29,90	97
Загалом	1513	89,95	169	10,05	1682

Результати ПЛР якісне визначення показали зменшення частоти виявлення для жінок з 14,53% (2021р.) до 11,97% (2022р.), для чоловіків з 21,72% (2021р.) до 12,32% (2022р.). За результатами кількісного визначення ПЛР ВГС теж спостерігається зменшення діагностування позитивних випадків для жінок з 30,30% (2021р.) до 27,18% (2022р.), для чоловіків з 35,90% (2021р.) до 29,18% (2022р.)

Велике значення має поширення вірусу гепатиту С серед жінок, особливо репродуктивного періоду, котрі готуються стати матір'ю чи вже перебувають в вагітному стані. Вірус гепатиту С має здатність інфікувати плід під час виношування та в період пологів, що несе загрозу інфікувати немовля. Порівняно з чоловіками, жінки більше піддаються впливу шприців, крові та продуктів крові, особливо під час вагітності та пологів, а також під час проколювання вух, а отже, мають більший ризик інфікування ВГС. Вивчаючи відмінності в гендерній поширеності в дослідженнях, проведених в даній лабораторії (без факторів ризику) після виключення досліджень на групах високого ризику, чоловіки продемонстрували значно підвищену поширеність як антитіл до ВГС, так і позитивних результатів ПЛР на ВГС.

Однією з основних перешкод для повної елімінації ВГС є те, що значна частка людей, які мають хронічну інфекцію ВГС, не знають про свій статус. Крім того, статистика захворюваності значно відрізняється між різними регіонами, країнами та групами ризику. Для аналізу масштабів пандемії в різних регіонах та розробки заходів охорони громадського здоров'я потрібні точні дані про поширеність та захворюваність ВГС. Тому скринінг на ВГС є необхідним для виявлення інфікованих осіб та залучення їх до програм догляду та лікування.

ВИСНОВКИ

1. При порівняльному аналізі за період 2021-2022 рр. серед пацієнтів клініко – діагностичної лабораторії ТОВ «СІ ЕС ДІ ЛАБ» виявлено тенденцію до зменшення рівня захворюваності на вірусний гепатит С 12,8% (2021 р.) до 9,46% (2022 р.).
2. Результати виявлення сумарних антитіл до вірусу гепатиту С серед обстежених жінок показали зменшення з 7,25% (2021 р.) до 6,28% (2022 р.) та збільшення з 7,40% (2021р.) до 8,40% (2022р.) серед чоловіків.
3. За результатами ПЛР для виявлення РНК вірусу гепатиту С якісне та кількісне - визначено зменшення частоти позитивного результату як серед жіночої так і чоловічої статі.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Jafri, W., Siddiqui, B. and Awan, S., 2018. HCV-discovery to elimination, "Myth or reality". *Hepatoma Research*, 4(9), p.54.
2. Boyer JL (2001). *Liver cirrhosis and its development: proceedings of the Falk Symposium 115*. Springer. pp. 344.
3. Pol, S. and Lagaye, S., 2019. The remarkable history of the hepatitis C virus. *Microbes and Infection*, 21(5-6), pp.263-270.
4. Kato N. Genome of human hepatitis C virus (HCV): gene organization, sequence diversity, and variation // *Microbial & comparative genomics*. – 2000. – Т. 5. – №. 3. – С. 129-151.
5. Морозов В., Лагайе С., 2018. Вірус гепатиту С: морфогенез, інфекція та терапія. *Всесвітній журнал гепатології*, 10 (2), pp.186-212.
6. Moradpour D., Penin F. Hepatitis C virus proteins: from structure to function // *Hepatitis C virus: from molecular virology to antiviral therapy*. – 2013. – С. 113-142.
7. Bostan, Nazish, and Tariq Mahmood. "An overview about hepatitis C: a devastating virus." *Critical reviews in microbiology* 36.2 (2010): 91-133.
8. Moriishi K, Matsuura Y. (2015) Exploitation of lipid components by viral and host proteins for hepatitis C virus infection. *Front Microbiol*. pp. 3(54).
9. Kim, C. and Chang, K., (2013). Hepatitis C virus: virology and life cycle. *Clinical and Molecular Hepatology*, 19(1), pp.17.
10. Ashfaq, U., Javed, T., Rehman, S., Nawaz, Z. and Riazuddin, S., 2011. An overview of HCV molecular biology, replication and immune responses. *Virology Journal*, 8(1) pp.22.
11. Grassi G, Di Caprio G, Fimia GM, Ippolito G, Tripodi M, Alonzi T. Hepatitis C virus relies on lipoproteins for its life cycle. *World J Gastroenterol*. 2016 ;22 :1953–1965.
12. Aziz, A. A. (2018). Hepatitis C Virus. *Hepatitis C in Developing Countries*, 3–11.

13. Simmonds P. Genetic diversity and evolution of hepatitis C virus *J Gen Virol* 2004;85:3173–88.
14. Blach S. et al. Global prevalence and genotype distribution of hepatitis C virus infection in 2015: a modelling study // *The Lancet Gastroenterology & Hepatology*. – 2017. – Т. 2. – №. 3. – С. 161-176.
15. Chevaliez, Stéphane, and Jean-Michel Pawlotsky. "HCV genome and life cycle." *Hepatitis C viruses: genomes and molecular biology* (2006).
16. World Health Organization et al. *Global hepatitis report 2017*. – World Health Organization, 2017.
17. Messina, J. P., Humphreys, I., Flaxman, A., Brown, A., Cooke, G. S., Pybus, O. G., & Barnes, E. (2015). Global distribution and prevalence of hepatitis C virus genotypes. *Hepatology*, 61(1), 77-87.
18. Roudot-Thoraval, F. (2021). Epidemiology of hepatitis C virus infection. *Clinics and Research in Hepatology and Gastroenterology*, 45(3)
19. Alter M. J. Epidemiology of hepatitis C virus infection // *World journal of gastroenterology: WJG*. – 2007. – Т. 13. – №. 17. – С. 2436.
20. Razavi H. Global Epidemiology of Viral Hepatitis. *Gastroenterol Clin North Am*. 2020 Jun;49(2):179-189.
21. Jafri SM, Gordon SC. Epidemiology of Hepatitis C. *Clin Liver Dis* (Hoboken). 2018;12(5):140-142. Published 2018 Dec 14. doi:10.1002/cld.783.
22. Сергеева Т.А. (2020). Гепатит С в Україні: захворюваність, поширеність, серопревалентність, серомоніторинг. *Клінічна імунологія. Алергологія. Інфектологія*. № 5 (126)
23. Shevchenko T. N. et al. Recent epidemiological trends in HCV-infection in Ukraine // *Regulatory Mechanisms in Biosystems*. – 2017. – Т. 8. – №. 2. – С. 210-216.
24. Irshad M, Mankotia DS, Irshad K. An insight into the diagnosis and pathogenesis of hepatitis C virus infection. *World J Gastroenterol*. 2013;19(44):7896-7909.

25. Zeisel MB, Felmlee DJ, Baumert TF. Hepatitis C virus entry. *Curr Top Microbiol Immunol*. 2013;369:87–112.
26. Viso, Ana Tereza R. "Pathogenesis of hepatitis C: HCV consensus 2007." *Brazilian Journal of Infectious Diseases* 11 (2007): 14-19.
27. Liang, T. Jake, and Theo Heller. "Pathogenesis of hepatitis C—associated hepatocellular carcinoma." *Gastroenterology* 127.5 (2004): S62-S71.
28. Hoofnagle, J. H. (2000). Hepatitis C: the clinical spectrum of disease. *Hepatology*, 26(S3), 15S-20S.
29. Dickson, R. C. (2002). Clinical manifestations of hepatitis C. *Clinics in liver disease*, 1(3), 569-585.
30. Sterling, R. K., & Bralow, S. P. (2006). Extrahepatic manifestations of hepatitis C virus. *Current gastroenterology reports*, 8(1), 53-59.
31. Sinn, Dong Hyun, et al. "Comparison of clinic manifestations and outcomes between hepatitis B virus-and hepatitis C virus-related hepatocellular carcinoma: analysis of a nationwide cohort." (2014) 8(9), pp. 23-54.
32. Antonelli, A., Ferri, C., Ferrari, S. M., Colaci, M., Sansonno, D., & Fallahi, P. (2009). Endocrine manifestations of hepatitis C virus infection. *Nature Clinical Practice Endocrinology & Metabolism*, 5(1), 26-34.
33. Zignego, A. L., & Craxì, A. (2008). Extrahepatic manifestations of hepatitis C virus infection. *Clinics in liver disease*, 12(3), 611-636.
34. Airoidi, J., & Berghella, V. (2006). Hepatitis C and Pregnancy. *Obstetrical & Gynecological Survey*, 61(10), 666–672.
35. Dibba, P., Cholankeeril, R., Li, A., Patel, M., Fayek, M., Dibble, C. Ahmed, A. (2018). Hepatitis C in Pregnancy. *Diseases*, 6(2), 31.
36. Hughes, B. L., Page, C. M., & Kuller, J. A. (2017). Hepatitis C in pregnancy: screening, treatment, and management. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 217(5).
37. Andes, A., Ellenberg, K., Vakos, A., Collins, J., & Fryer, K. (2020). Hepatitis C Virus in Pregnancy: A Systematic Review of the Literature. *American Journal of Perinatology*.

38. Checa Cabot, Claudia A., et al. "Mother-to-child transmission of hepatitis C virus (HCV) among HIV/HCV-coinfected women." *Journal of the pediatric infectious diseases society* 2.2 (2013): 126-135.
39. Gupta, Ekta, Meenu Bajpai, and Aashish Choudhary. "Hepatitis C virus: Screening, diagnosis, and interpretation of laboratory assays." *Asian journal of transfusion science* 8.1 (2014): 19.
40. Lebovics, Edward, Richard Torres, and Lucinda K. Porter. "Primary care perspectives on hepatitis C virus screening, diagnosis and linking patients to appropriate care." *The American journal of medicine* 130.2 (2017): S1-S2.
41. Li, Hui-Chun, and Shih-Yen Lo. "Hepatitis C virus: Virology, diagnosis and treatment." *World journal of hepatology* 7.10 (2015): 1377.
42. Ghany, Marc G., et al. "Diagnosis, management, and treatment of hepatitis C: an update." *Hepatology (Baltimore, Md.)* 49.4 (2009): 1335.
43. Голубовська, Ольга Анатоліївна, et al. "Вірусний гепатит В. Позиція ВООЗ: адаптована клінічна настанова, заснована на доказах." (2016).