

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ
БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
БИОЛОГИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ
Кафедра молекулярной биологии

ВЕЛИЧКО

Виктория Александровна

**СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА СОВРЕМЕННЫХ МЕТОДОВ
ДИАГНОСТИКИ ВИРУСНЫХ ГЕПАТИТОВ В И С**

Дипломная работа

Научный руководитель:
кандидат химических наук,
доцент О.Б. Русь

Допущена к защите

15 мая 2020 г.

Зав. кафедрой молекулярной биологии
доктор биологических наук, профессор А.Н. Евтушенков

Минск, 2020

РЕФЕРАТ

Дипломная работа 55 страниц, 10 рисунков, 13 таблиц, 35 источников.
Вирусный гепатит С, вирусный гепатит В, ИФА, ПЦР.

Объект исследования: сыворотка и плазма крови доноров крови, плазмы и компонентов крови РНПЦ трансфузиологии и медицинских биотехнологий.

Цель исследования: провести сравнительную характеристику лабораторных исследований иммунологического метода ИФА и молекулярно-генетического метода ПЦР на маркеры вирусных гепатитов В и С.

Методы исследования: иммуноферментный анализ, полимеразная цепная реакция и полимеразная цепная реакция с методом обратной транскрипции.

Результаты работы:

1. Проведены скрининговые лабораторные исследования 72 архивных образцов сыворотки крови доноров на маркеры вирусных гепатитов: 31 образца – на присутствие поверхностного АГ (HbsAg) и ДНК вируса гепатита В и 41 образца сыворотки крови доноров – на наличие антител к вирусу гепатита С и РНК.
2. В 17 из 31 обследуемых архивных образцов сыворотки крови доноров методом ИФА выявлен поверхностный АГ (HbsAg) вируса гепатита В. При обследовании этих же 31 образцов сывороток методом ПЦР ДНК вируса обнаружена в 26 образцах. Это связано с тем, что сероконверсионное окно для метода ИФА составляет 59 дней, а увеличение титра вируса в крови, позволяющего выявить его методом ПЦР, наступает через 35 дней после инфицирования.
3. В 27 из 41 обследуемых архивных образцов сыворотки крови доноров методом ИФА выявлены антитела к вирусу гепатита С. При обследовании тех же 41 образцов сывороток методом ПЦР с обратной транскрипцией РНК вируса обнаружена в 33 образцах. Это объясняется тем, что сероконверсионное окно для метода ИФА составляет 82 дня, а количество нуклеиновой кислоты вируса достигает детектируемых значений спустя 11-14 дней от начала инфицирования.
4. Полученные результаты лабораторных исследований свидетельствуют о том, что для выявления возбудителей вирусных гепатитов В и С на начальных стадиях заболевания следует использовать ПЦР-диагностику как метод более раннего и точного выявления заболевания.

РЭФЕРАТ

Дыпломная праца 55 старонак, 10 малюнкаў, 13 табліц, 35 крыніц.

Вірусны гепатыт С, вірусны гепатыт В, ІФА, ПЛР.

Аб'ект даследавання: сываратка і плазма крыві донараў крыві, плазмы і кампанентаў крыві РНПЦ трансфузіялогіі і медыцынскіх біятэхнологій.

Мэта даследавання: правеці параунальную характеристыку лабараторных даследаванняў імуналагічнага методу ІФА і малекулярнагенетычнага методу ПЛР на маркеры вірусных гепатытаў.

Методы даследавання: імуноферменты аналіз, палімеразная ланцуговая рэакцыя і палімеразная ланцуговая рэакцыя з метадам зваротной транскрыпцыі.

Вынікі працы:

1. Праведзены скрынінгавыя лабараторныя даследаванні 72 архіўных узораў сыроваткі крыві донараў на маркеры вірусных гепатытаў: 31 ўзор - на прысутнасць павярхноўнага АГ (HbsAg) і ДНК віруса гепатыту В і 41 ўзор сыроваткі крыві донараў - на наяўнасць антыцелаў да віруса гепатыту С і РНК.
2. У 17 з 31 абследуемых архіўных узораў сыроваткі крыві донараў методам ІФА выяўлены паверхневы антыген (HbsAg) гепатыту В.
Пры абследаванні гэтых жа 31 узораў сываратак методам ПЛР ДНК віруса выяўлена ў 26 узорах. Гэта звязана з тым, што сераканверсійнае акно для методу ІФА складае 59 дзён, а павелічэнне тытра віруса ў крыві, які дазваляе выявіць яго методам ПЛР, наступае праз 35 дзён пасля інфіцыравання.
3. У 27 з 41 абследуемых архіўных узораў сыроваткі крыві донараў методам ІФА выяўлены антыцелы да віруса гепатыту С. При абследаванні тых жа 41 узораў сываратак методам ПЛР з зваротнай транскрыпцыяй РНК віруса выяўлена ў 33 узорах. Гэта тлумачыцца тым, што сераканверсійнае акно для методу ІФА складае 82 дні, а колькасць нуклеінавай кіслаты віруса дасягае дэтэкціраваных значэнняў праз 11-14 дзён ад пачатку інфіцыравання.
5. Атрыманыя вынікі лабараторных даследаванняў сведчаць аб тым, што для выяўлення узбуджальнікаў вірусных гепатытаў В і С на пачатковых стадыях захворвання варта выкарыстоўваць ПЛР-дыягностыку як метод больш ранняга і дакладнага выяўлення захворвання.

Zusammenfassung

Diplomarbeit 55 Seiten, 10 Zeichnungen, 13 Tabellen, 13 Quellen.

Virale Hepatitis C, virale Hepatitis B, Elisa, PCR.

Gegenstand der Studie: Serum und Plasma Blutspender, Plasma und blutkomponenten rmpc transfusionologie und medizinische Biotechnologie.

Ziel der Studie: eine vergleichende Charakteristik der Laboruntersuchungen der immunologischen Elisa-Methode und der molekularen genetischen PCR-Methode auf Marker der Virushepatitis B und C.

Untersuchungsmethoden: Immuno-Enzym-Analyse, Polymerase-Kettenreaktion und Polymerase-Kettenreaktion mit Reverse-transkriptionsmethode.

Arbeitsergebnis:

1. 72 archivierte Proben des Blutserums der Spender wurden auf Marker der viralen Hepatitis durchgeführt: 31 Proben - auf das Vorhandensein von Oberflächen-AG (HbsAg) und DNA des Hepatitis – B-Virus und 41 Proben des Blutserums der Spender-auf das Vorhandensein von Antikörpern gegen das Hepatitis-C-Virus und RNA.

2. In 17 von 31 untersuchten archivierten blutserumproben von Spendern durch Elisa wurde eine oberflächliche AG (HbsAg) des Hepatitis-B-Virus nachgewiesen.

Bei der Untersuchung der gleichen 31 Proben von Seren durch PCR wurde die DNA des Virus in 26 Proben gefunden. Dies liegt daran, dass das serokonversionsfenster für die Elisa-Methode 59 Tage beträgt und der Anstieg des titers des Virus im Blut, der es durch die PCR-Methode nachweisen kann, 35 Tage nach der Infektion Auftritt.

3. Bei der Untersuchung der gleichen 41 Proben von Serum-PCR mit Reverse-Transkription von RNA-Virus in 33 Proben gefunden. Dies liegt daran, dass das serokonversionsfenster für die Elisa-Methode 82 Tage beträgt und die Menge an Nukleinsäure des Virus nach 11-14 Tagen nach Beginn der Infektion detektierbare Werte erreicht.

4. Die Ergebnisse der Laboruntersuchungen zeigen, dass, um die Erreger der viralen Hepatitis B und C in den Anfangsstadien der Krankheit zu identifizieren, PCR-Diagnostik als eine Methode der früheren und genauen Erkennung der Krankheit verwendet werden sollte.