

# ДОСВІД РОБОТИ ВІРУСОЛОГІВ ДНІПРОПЕТРОВСЬКОЇ ОБЛАСНОЇ САНЕПІДСТАНЦІЇ ЩОДО ДІАГНОСТИКИ ГРИПУ А/КАЛІФОРНІЯ/Н1Н1

В.Г. Капшук, М.О. Бредихіна, Л.О. Гриценко,  
І.С. Гернець, Л.І. Хижняк (Дніпропетровськ)  
Дніпропетровська обласна санітарно-епідеміологічна станція

**Резюме.** Висвітлено досвід роботи Дніпропетровської обласної санітарно-епідеміологічної станції щодо вірусологічного моніторингу за циркуляцією вірусів грипу, зокрема, грипу А/Каліфорнія/Н1Н1.

**Ключові слова:** грип А/Каліфорнія/Н1Н1, вірусологічний моніторинг, Дніпропетровська обласна санітарно-епідеміологічна станція.

У Дніпропетровській обласній санітарно-епідеміологічній станції (облСЕС), яку визначено опорною базою Українського центру грипу, накопичено 25-річний досвід роботи з вірусологічного моніторингу за циркуляцією вірусів грипу.

Лабораторна діагностика грипу і гострих респіраторних вірусних інфекцій (ГРВІ) проводиться у 3 вірусологічних лабораторіях міських та облСЕС із використанням класичних методів вірусовиділення на курячих ембріонах, серологічних досліджень і досліджень на культурі клітин МДСК [2; 4; 5].

У період пандемії грипу лише вірусологічна лабораторія облСЕС проводила дослідження з метою визначення вірусів пандемічного грипу А/Н1 та вірусів сезонного грипу. В інших вірусологічних лабораторіях робота з матеріалом від хворих на грип та ГРВІ не велася через брак умов біобезпеки BSL/2-polio.

У 2008–2009 рр. у результаті реорганізації та реконструкції приміщень у вірусологічній лабораторії організовано блок приміщень – бокси, передбокси для різних етапів проведення полімеразно-ланцюгової реакції (ПЛР).

У 2009 р. вірусологічна лабораторія розширила гаульз атестації з проведення досліджень методом ПЛР.

Фахівці вірусологічної лабораторії пройшли підготовку з методики проведення ПЛР на навчальних циклах у Національній медичній академії післядипломної освіти, науково-дослідному інституті епідеміології та інфекційних захворювань ім. Громашевського, референс-лабораторії з питань вірусологічної діагностики грипу та ГРВІ Центральної СЕС.

У лабораторії використовувалось обладнання для проведення досліджень методом ПЛР у режимі реаль-

ного часу, яке включає двоканалний аналізатор ROTOR-GENE-6000 (виробництва Австралія). Тому відразу після надходження наборів для ПЛР (листопад 2009 р.) почали проводитись дослідження методом ПЛР з визначення вірусу пандемічного грипу А/Н1 у хворих з усіх лікувально-профілактичних закладів області.

Кількість матеріалу для досліджень на ПЛР з початку пандемії грипу зростала щодня. Тільки у листопаді-грудні 2009 р. надійшло понад 1000 зразків. Однак потужність наявного обладнання для ПЛР не давала змоги своєчасно досліджувати матеріал. Після звернення до голови обласної ради (на той період), головного лікаря облСЕС С.А. Риженко, придбано коштом обласного бюджету більш потужне обладнання, у т.ч. ампліфікатор CFX-96 5-каналний (Bio-Rad) та інше обладнання для проведення ПЛР у вірусологічній лабораторії. Таким чином, вже у січні 2010 р. обладнано додаткові робочі місця для проведення ПЛР та організовано роботу в 2 робочі зміни (у т.ч. у вихідні та святкові дні).

Цей факт сприяв своєчасній лабораторній діагностики свиного грипу і збереженню здоров'я населення області.

Розробка проб від хворих проводилась у ламінарних шафах 2-го класу захисту. Фахівці застосовували засоби індивідуального захисту: протичумні халати, захисні окуляри, респіратори з клапанами, рукавички тощо.

Дослідження методом ПЛР з визначення РНК вірусу грипу А/Н1 свиний проводилися з використанням наборів реагентів Ампли Сенс виробництва Росія.

В період епідемії грипу в області (листопад 2009 р. – січень 2010 р.) вірусологічною лабораторією облСЕС об-

стежено понад 1000 хворих на грип та ГРВІ, у 44,4% випадків визначено РНК вірусу грипу А/Н1-свиний.

Усього станом на 01.08.2010 р. проведено 1690 досліджень на грип А/Н1-свиний.

У період пандемії заборонялося виділяти віруси на культурі клітин МДСК. Однак цю роботу фахівці вірусологічної лабораторії облСЕС розпочали з квітня 2010 р., після дозволу ЦСЕС.

Більшість проб у цей період року надходила з 4 базових лікарень дозорного центру грипу, забезпечених судами Дюара для зберігання проб. В лікарнях організовувався забір проб у кріопробірки з транспортним середовищем, потім матеріал глибоко заморожувався в сосудах Дюара.

Проби до вірусологічної лабораторії облСЕС доставлялися з дотриманням холодового ланцюга. Після проведення етапу пробопідготовки [6] матеріал досліджувався на наявність РНК вірусу грипу А/Н1-свиний методом ПЛР. Проби з негативним результатом у ПЛР заражались на культурі клітин МДСК (перещеплювальна культура епітеліальних клітин нирки собаки) [2;4;5].

Для ідентифікації гемаглютинуючих агентів застосовувалися швидкі імунохроматографічні тести «Cito test influenza A+B». Ця методика широко використовувалася у всіх вірусологічних лабораторіях області.

У квітні-травні 2010 р. на культурі клітин МДСК ізолювано 15 вірусів грипу, з них 6 – грипу А, 9 – грипу В [4; 6]. Усі ізоляти направлялися для підтвердження та подальшої ідентифікації до Українського центру грипу і потім до двох світових центрів грипу CDC (м. Атланта, США, та м. Лондон, Великобританія) з метою участі України в огляді за грипом у світовому масштабі. Станом на 01.08.2010 р. світові центри грипу

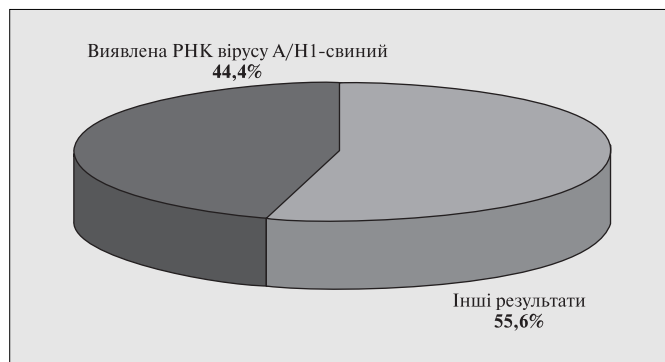


Рис. Результати досліджень хворих на грип та гострі респіраторні вірусні інфекції методом полімеразної ланцюгової реакції

підтвердили, що 6 ізолятів вірусів грипу належать до штаму А/Каліфорнія/(Н1N1)/07/2009; 4 – до штаму В/Brisbane/60/2008.

Результати вивчення «дніпропетровських» вірусів грипу в світових центрах грипу враховувалися при визначенні штамового складу вакцин проти грипу на наступний епідемічний сезон.

У період пандемії проводилися дослідження на грип парних сироваток крові в реакції гальмування гемаглютинації (РТГА) від 469 хворих [3]. Зростання титру антитіл до вірусів грипу встановлено у 27,6% випадків, у т.ч. грипу типу А(Н1N1) – 15,2%; типу А(Н2N2) – 0,8%; типу А (Н3N2) – 9,0%, типу В – 2,6%.

Найбільш доступним для практичної лабораторії є імунофлюоресцентний метод (ІФМ) – дослідження носоглоткових змивів на наявність антигенів вірусів грипу А, В, парагрипу, аденовірусів, RS-інфекції [1;3]. Однак у період пандемії цей метод не застосовувався.

## Список літератури

1. Вороненко С. Г. Віруси грипу: [пос. з медичної вірусології] / С. Г. Вороненко. – К.: Здоров'я, 1995. – С. 222–229.
2. Коваленко С. М. Выделение вирусом гриппа на культуре клеток / С. М. Коваленко, Н. Я. Коробка // Проблемы эпидемиологии, экологии та гігієни. – Дніпропетровськ: Пороги, 2001. – С. 78–79.
3. Методи лабораторної діагностики грипу та гострих респіраторних інфекцій // Методичні рекомендації, затверджені наказом МОЗ України від 09.02.1998 р. № 30. – С. 28–31.
4. Міроненко А. П. Методичні підходи до виділення вірусів грипу та реалізація їх в Україні / А. П. Міроненко // Лабораторна діагностика. – 2001. – № 4. – С. 42–44.
5. Міроненко А. П. Штамова характеристика складу популяції вірусів грипу, виділених в Україні в 2000–2002 роках / А. П. Міроненко // Лабораторна діагностика. – 2004. – № 4. – С. 39–42.
6. Свойства вирусом гриппа А и В, выделенных на куриных эмбрионах и в культуре клеток МДСК / Е. И. Бурцева, В. Т. Иванова, Т. А. Осерко, А. Н. Слепушкин // Вопросы вирусологии. – 2001. – № 1. – С. 29–33.

**Опыт работы вирусологов Днепропетровской  
областной санэпидстанции по диагностике  
гриппа А/Калифорния/Н1N1**

*В.Г. Капшук, М.О. Бредихина, Л.О. Грыценко,  
И.С. Гернец, Л.И. Хижняк (Днепропетровск)*

Освещен опыт работы Днепропетровской областной санэпидстанции по вирусологическому мониторингу за циркуляцией вирусов гриппа, в т.ч. гриппа А/Калифорния/Н1N1.

**Ключевые слова:** грипп А/Калифорния/Н1N1, вирусологический мониторинг, Днепропетровская областная санэпидстанция.

**Experience of virologists Dnepropetrovsk  
regional sanitary and epidemiological station  
concerning diagnostics of flu A/California/H1N1**

*V.G. Kapshuk, M.O. Bredykhina, L.O. Grytsenko,  
I.S. Gernets, L.I. Khyzhnyak (Dnipropetrovsk)*

Experience Dnepropetrovsk regional sanitary and epidemiological station as for viral monitoring on circulation of flu viruses, in particular, flu A/California/H1N1 has been illuminated.

**Key words:** flu A/California/H1N1, viral monitoring, Dnepropetrovsk regional sanitary and epidemiological station.

*Рецензент: д-р мед. наук О.І. Гриневич.*