

Міністерство освіти і науки України
Головне управління освіти і науки Київської облдержадміністрації
Київське обласне територіальне відділення МАН України

Відділення хімії та біології
Секція: медицина

**ВИЯВЛЕННЯ РОТАВІРУСІВ У ВОДНИХ ОБ'ЄКТАХ СЕЛИЩА
ТА СЕРЕД ХВОРИХ НА ГОСТРІ КИШКОВІ ІНФЕКЦІЇ
НА ТЕРИТОРІЇ СМТ ГРЕБІНКИ**

Роботу виконала:

Обертинська Діана Ярославівна
учениця 10 класу
Гребінківської гімназії

Науковий керівник:

Клюкова Валентина Василівна
вчитель біології та хімії,
вчитель-методист

Рецензент:

Кукало Оксана Володимирівна
кандидат медичних наук,
доцент кафедри вірусології НМАПО
імені П.Л. Шупика

ЗМІСТ

ВСТУП	3
РОЗДІЛ 1	
СУЧАСНІ УЯВЛЕННЯ ПРО РОТАВІРУСИ	
1.1. Історична довідка.....	7
1.2. Структура та будова ротавірусів.....	7
1.3. Роль об'єктів довкілля в поширенні ротавірусів людини.....	9
1.4. Особливості та методичні підходи до індикації ротавірусів в об'єктах довкілля.....	10
РОЗДІЛ 2	
КОНЦЕНТРУВАННЯ РОТАВІРУСІВ ЛЮДИНИ ЗА ДОПОМОГОЮ СОРБЕНТУ «ЕНТЕРОСГЕЛЬ»	
2.1. Експериментальне відтворення методу концентрування ротавірусів ...	12
2.2. Впровадження методу концентрації в польових умовах.....	12
РОЗДІЛ 3	
ВИЯВЛЕННЯ РОТАВІРУСІВ У ПРОБАХ ВОДИ РІЗНОГО ВИДУ ВОДОКОРИСТУВАННЯ ТА У КЛІНІЧНОМУ МАТЕРІАЛІ	
3.1. Виявлення ротавірусів у фекальному матеріалі від хворих на ГКІ та у пробах води різного виду користування методом імунохроматографічного аналізу.....	16
РОЗДІЛ 4	
ВИЗНАЧЕННЯ ОСОБЛИВОСТЕЙ ЦИРКУЛЯЦІЇ РОТАВІРУСІВ СЕРЕД МЕШКАНЦІВ ВАСИЛЬКІВСЬКОГО РАЙОНУ ТА У ВОДНИХ ОБ'ЄКТАХ ДОВКІЛЛЯ ГРЕБІНОК	
4.1. Поширеність ротавірусів в об'єктах довкілля.....	20
4.2. Циркуляція ротавірусів серед людей.....	22
ВИСНОВКИ	25
ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ	26
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	28
ДОДАТКИ	31

ВСТУП

Актуальність теми. Сьогодні ротавірусна інфекція (РВІ) є однією з найважливіших проблем сучасної медичної науки, біології та практики охорони здоров'я населення, що значною мірою зумовлено повсюдним поширенням ротавірусів (РВ), здатністю зумовлювати тяжкі діареї переважно у дітей віком до 5 років, негативними наслідками, які вони спричиняють. [1].

Щорічно в світі реєструється більше 114 млн випадків РВІ, які є причиною 2 млн госпіталізацій і біля 527 тис. смертей дітей у віці до п'яти років, при цьому до 80% летальних випадків припадають на країни, що розвиваються [2].

В Україні за даними офіційної статистики питома вага РВІ в структурі гострих кишкових інфекцій (ГКІ) у дітей рік від року зростає: з 1,22 на 100 тис. населення у 1995 році до 4,92 на 100 тис. у 2014 році [3]. Проте відсутність системи епідеміологічного нагляду за поширенням рота вірусів (РВ) в Україні, недосконалість лабораторної діагностики РВІ в лікувально-профілактичних закладах і, як наслідок, значний відсоток етіологічно нерозшифрованих випадків ГКІ (більше 80%), що не потрапляють до звітних форм офіційної статистики, не дозволяють визначити реальну картину захворюваності на РВІ в цілому в державі [4].

Головними чинниками передачі РВ стали забруднена питна вода і продукти харчування, неоднозначно засвідчили активізацію епідемічного процесу та актуальність досліджень щодо вивчення РВІ на території України і смт. Гребінки, удосконалення методів індикації (виявлення) збудника в об'єктах довкілля, і, особливо, у воді різного виду водокористування [5].

Мета роботи: дізнатися про методичні підходи визначення ротавірусів людини у воді та вивчити особливості їх поширення у водних об'єктах довкілля на території смт Гребінки.

Для досягнення мети були поставлені наступні **завдання:**

- Виявити РВ людини за допомогою санітарно-вірусологічних досліджень у стічних водах, воді поверхневих і підземних водоймищ та питній воді відповідно до запропонованих схем та алгоритмів розробниками

- Виявити РВ людини за допомогою санітарно-вірусологічних досліджень у стічних водах, воді поверхневих і підземних водоймищ та питній воді відповідно до запропонованих схем та алгоритмів розробниками
- Виявити РВ людини за допомогою санітарно-вірусологічних досліджень у стічних водах, воді поверхневих і підземних водоймищ та питній воді відповідно до запропонованих схем та алгоритмів розробниками

Об'єкт дослідження: процеси адсорбції та елюції РВ природними та штучно синтезованими сорбентами, санітарно-вірусологічні дослідження води різного виду водокористування та забруднення, регіональне поширення РВ у водних об'єктах довкілля на території смт. Гребінки, циркуляція РВ серед хворих на ГКІ.

Предмет дослідження: штами – ізоляти 7-го пасажу РВ людини HRV-134, HRV-320, проби води різного виду водокористування та різного ступеня забруднення, клінічний матеріал (фекалії хворих на ГКІ), перещеплювані культури клітин, гідрогель метилкремнієвої кислоти.

Методи дослідження. При виконанні роботи використані вірусологічні (стаціонарне та ролерне культивування культур клітин, виділення, концентрування вірусів), імунохроматографічний аналіз — ІХА (в роботі використовувались прості швидкі тести на основі ІХА — ПШТ на основі ІХА), молекулярно-генетичні (виділення РНК, полімеразна ланцюгова реакція із зворотною транскрипцією — ПЛР-ЗТ, облік в реальному часі), експериментальні та статистичні методи дослідження.

Із застосуванням вірусологічних методів проведено виділення ротавірусів вірусів, визначення їх у клінічному матеріалі, так і у пробах води різного виду водокористування.

Із застосуванням серологічних (ІХА) методів (молодий дослідник виконував особисто), проведено дослідження щодо виявлення антигенів (АГ) РВ групи А в матеріалі від хворих на ГКІ, а в умовах експерименту, за допомогою санітарно-вірусологічного методу, досліджено проби з об'єктів довкілля (вода питна, річкова).

Із застосуванням молекулярно-генетичних методів, для підтвердження правильності отримання даних молодим дослідником, досліджено поширення РВ у водних об'єктах довкілля та циркуляцію серед хворого населення смт. Гребінки.

Статистичний метод використовувався на всіх етапах роботи для обробки результатів дослідження, визначення вірогідності отриманих даних.

Наукова новизна одержаних результатів. Вперше вивчено та показано поширення ротавірусів у водних об'єктах довкілля на території смт Гребінки, що має велике прогностичне значення для розробки заходів профілактики можливих спалахів ГКІ з водним чинником передачі інфекції.

У роботі використано новий спосіб концентрації ротавірусів з води з використанням штучно синтезованого та стандартизованого сорбенту гідрогелю метилкремнієвої кислоти. Опановано основні чинниками впливу на процеси адсорбції та елюції РВ людини у реакційному середовищі в експериментальних умовах. Визначені найефективніші умови елюції (вивільнення) РВ. Використані на практиці нові схеми концентрування РВ з води різного виду водокористування смт. Гребінки. Вперше в Гребінках застосовані на практиці нові алгоритми санітарно-вірусологічного дослідження води різного виду користування з метою виявлення РВ у водних об'єктах .

З метою підвищення ефективності виявлення ротавірусів в пробах води після етапу концентрування запропоновано застосування ПШТ на основі ІХА та ПЛР — ЗТ. Удосконалено методи виділення та ідентифікації РВ в культурі клітин.

Практичне значення одержаних результатів. На основі проведеної нами роботи, а саме впровадження нового способу та схем концентрування РВ із проб води різного виду водокористування, обрання ефективного і зручного методу виявлення (індикації) РВ у воді запропоновано (сумісно з групою науковців) нові алгоритми дослідження води із застосуванням штучного сорбенту «Ентеросгель».

Експериментальні дослідження проводились в науковій лабораторії кафедри вірусології НМАПО імені П.Л. Шупика МОЗ України, про що свідчать відповідні фото (див. додаток 8).

Особистий внесок автора роботи. Вибір, обґрунтування напряму теми наукових досліджень, впровадження методик та схем досліджень розроблених

науковцями кафедри спільно з науковим керівником, учителем біології і хімії, методистом В. В. Ключовою. Експериментальні дослідження, обробка їх результатів, написання, оформлення роботи виконані автором особисто під керівництвом доцента кафедри вірусології НМАПО імені П. Л. Шупика

Кукало О. В.

Матеріали роботи доповідалися на конференції Гімназійного наукового братства у присутності гостей: кандидата медичних наук Кукало О.В., та кандидата біологічних наук Трохименко Олени Петрівни, місцевих лікарів-педіатрів, жителів смт. Гребінки Васильківського району Київської області.